

BIOMARCADORS OCULARS EN LA MALALTIA D'ALZHEIMER PRECOÇ

ESTUDI DE CAPA DE FIBRES NERVIOSES I CÈL·LULES GANGLIONARS DE LA
RETINA I ALTERACIONS PUPIL·LARS

Departament de cirurgia / Universitat Autònoma de Barcelona

Autor: Sandra Gómez Sánchez

Títol: Biomarcadors oculars en la malaltia d'Alzheimer precoç: Estudi de la capa de fibres nervioses i cèl·lules ganglionars de la retina i alteracions pupil·lars

Directors: José García-Arumí i Xavier Valldeperas

Treball de recerca

Convocatòria de Setembre de 2012

I. Índex

	Pàgina
I. Índex	2
II. Nomenclatura	5
1. Justificació	7
2. Introducció	8
2.1 Malaltia d'Alzheimer (MA)	8
2.1.1 Concepte	8
2.1.2 Epidemiologia	8
2.1.3 Etiologia, classificació i formes genètiques	8
2.1.4 Factors de risc no genètics	10
2.1.5 Manifestacions clíniques	11
2.1.6 Diagnòstic	15
2.1.7 Tractament	20
2.1.8 Profilaxi	21
2.1.9 Cost sociosanitari de la MA	21
2.2 Manifestacions oftalmològiques de la MA	22
2.2.1 Biomarcadors oculars de la MA	22
3. Revisió i actualització bibliogràfica	24
3.1 Proves d'imatge	24
3.2 Anàlisi del líquid cefaloraquídi	25
3.3 Biomarcadors oculars	26
3.3.1 Resposta pupil·lar en la MA	26
3.3.2 Vascularització retiniana en la MA	27
3.3.3 Capa de fibres nervioses retinianes en la MA	27
4. Hipòtesi	28
5. Objectius del treball	29

6. Material i Mètodes	30
6.1 Criteris d'inclusió	30
6.1.1 Criteris d'inclusió dels pacients	30
6.1.2 Criteris d'inclusió dels controls sans	30
6.2 Criteris d'exclusió	30
6.2.1 Criteris d'exclusió dels pacients	30
6.2.2 Criteris d'exclusió dels controls sans	31
6.3 Avaluació prèvia	32
6.3.1 Anamnesi	32
6.3.2 Exploració oftalmològica inicial	32
6.4 Estudi d'hipersensibilitat pupil·lar a la pilocarpina	34
6.4.1 Preparació de la dilució	34
6.4.2 Test d'hipersensibilitat a la pilocarpina	35
6.5 Exploració funduscòpica	36
6.6 Estudi de la capa de fibres nervioses retiniana per Tomografia de Coherència Òptica de Domini Espectral	36
6.7 Estudi de la capa de cèl·lules ganglionars i plexiforme interna per Tomografia de Coherència Òptica de Domini Espectral	38
6.8 Estudi del gruix foveal per Tomografia de Coherència Òptica de Domini Espectral	39
6.9 Anàlisi estadístic de les dades	39
6.9.1 Càlcul de la mida mostral	40
7. Resultats	41
7.1 Descripció de la mostra	41
7.2 Resposta pupil·lar a la pilocarpina diluïda	43
7.3 Anàlisi de la capa de fibres nervioses retinianes	44

7.4 Anàlisi de la relació entre el gruix de la CFNR amb el grau de severitat de la MA	46
7.5 Anàlisi de la capa de cèl·lules ganglionars retinianes	46
7.6 Anàlisi de la relació entre el gruix de la CCG amb el grau de severitat de la MA	47
7.7 Anàlisi del gruix foveal	50
8. Discussió	51
9. Conclusions	60
10. Bibliografia	61
11. Annex	66
11.1 Consentiment informat – Casos	66
11.2 Consentiment informat – Control	67

II. Nomenclatura

AV	Agudeses visual
CCG	Capa de Cèl·lules Ganglionars
CGR	Cèl·lules Ganglionars de la Retina
CDR	Clinical Dementia Rating Scale
CFNR	Capa de Fibres Nervioses de la Retina
CPI	Capa Plexiforme Interna
DSM-IV	Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders
GDS	Global Deterioration Scale
MA	Malaltia d'Alzheimer
MMSE	Folstein Mini-Mental State Examination
NINCDS-ADRDA	National Institute of Neurologic and Communicative Disorders and Stroke-Alzheimer's Disease and Related Disorders Association
OCT	Tomografia de Coherència Òptica
PET	Tomografia per Emissió de Positrons
PIO	Pressió intraocular
SD-OCT	Tomografia de Coherència Òptica de Domini Espectral
TD-OCT	Tomografia de Coherència Òptica de Domini Temps

1. Justificació

La malaltia d'Alzheimer (MA) és el tipus de demència més freqüent a tot el món i actualment afecta a més de 26 milions de persones.[1] L'edat és el principal factor de risc i, en majors de 65 anys, la incidència de la malaltia es duplica cada 5 anys, amb la qual cosa s'estima una prevalença de més de 100 milions de casos el 2050 si tenim en compte la tendència cap a l'envelliment de la població.[2]

Inicialment el símptoma principal és la pèrdua de memòria episòdica i, a mesura que avança la malaltia, es presenten la pèrdua de capacitat d'aprenentatge, els problemes de llenguatge i les alteracions de les funcions executives fins que s'assoleix un nivell de dependència total per a les activitats bàsiques.

Actualment no es disposa de cap tècnica de diagnòstic definitiu *premortem* per a la MA. L'únic estudi diagnòstic conclouent és l'examen anatomopatològic cerebral per a la demostració de plaques neurítiques d'amiloide i cabdells neurofibril·lars.[3] Un diagnòstic *premortem* de probable Alzheimer és purament clínic i d'exclusió, amb presència de demència documentada amb el Miniexamen Mental de Folstein i de deteriorament cognitiu progressiu que no s'expliquin per l'existència d'alteracions sistèmiques o altres malalties cerebrals.[4]

Les alteracions visuals sovint estan presents de manera precoç en els malalts d'Alzheimer i, generalment, han estat atribuïdes tant a dany neuronal com a un dèficit d'acetilcolina a les estructures que intervenen en les vies visuals parasimpàtiques.[5,6] Nous àmbits de recerca van dirigits a la possibilitat que existeixin canvis oculars patològics específics de la MA, que podrien donar peu a noves proves diagnòstiques o de cribatge de la malaltia.

L'Alzheimer és una malaltia prevalent en augment, degenerativa i terminal, que només pot ser diagnosticada amb certesa mitjançant autòpsia i que implica un gran cost, tant social com econòmic. Establir un test diagnòstic sensible, precoç, no invasiu i senzill de dur a terme per a la MA és un gran repte i necessitat del segle XXI, i existeix la possibilitat que l'ull ens pugui aportar biomarcadors altament específics de la malaltia o bé que siguin d'utilitat en l'aproximació al diagnòstic.

2. Introducció

2.1 Malaltia d'Alzheimer

2.1.1 Concepte

La malaltia d'Alzheimer (MA) és una malaltia degenerativa cerebral primària, caracteritzada per un deteriorament cognitiu d'inici insidiós i curs progressiu que afecta la memòria, el pensament, la comprensió, el càlcul i el llenguatge, la capacitat d'aprenentatge i el desenvolupament de les funcions executives, així com altres funcions cognitives i no cognitives com trastorns del comportament, arribant a una dificultat per realitzar les activitats bàsiques quotidianes que determina la dependència total del malalt.

2.1.2 Epidemiologia

La MA suposa al voltant de dos terços del total de les demències, i la seva prevalença és variable segons l'edat, afectant aproximadament des d'un 1% de la població entre 65 i 69 anys d'edat fins un 40-50% de la població major de 95 anys.[7]

L'edat d'inici dels símptomes de la MA se situa al voltant dels 80 anys d'edat,[8] i la seva aparició en persones menors de 65 anys és poc freqüent i determina un subtipus de MA d'inici precoç.

Segons els estudis epidemiològics duts a terme en diferents poblacions arreu del món, la MA es manifesta clínicament de manera invariable en persones de totes les races, existint diferències en l'edat de presentació dels símptomes segons determinants genètics i culturals.[9]

2.1.3 Etiologia, classificació i formes genètiques

Segons l'edat d'aparició dels símptomes i de la presència o no d'antecedents familiars, existeix una classificació de la MA amb significat etiològic.

2.1.3.1 Malaltia d'Alzheimer d'inici precoç o presenil (MAIP)

La MAIP implica un inici dels símptomes abans dels 65 anys, i representa un 3-5% de tots els casos de MA.[10]

2.1.3.1.1. Malaltia d'Alzheimer d'inici precoç amb antecedents familiars (MAIPF)

En aquests casos, la MA presenta una herència autosòmica dominant, i afecta com a mínim a 3 familiars de primer grau, però s'ha de considerar la possibilitat que aquest patró es trobi emmascarat en casos de famílies petites, mort prematura o si existeix una penetrància incompleta.

En el 50% dels casos de MAIPF es pot demostrar una mutació genètica que es considera la causa de la malaltia. Aquesta mutació es troba en el gen de la presenilina 1 en el cromosoma 14 (70% dels casos), en el gen de la proteïna precursora d'amiloide en el cromosoma 21 (5%) o en el gen de la presenilina 2 en el cromosoma 1 (2%) entre d'altres.[11].

En l'altre 50% dels casos, no es detecta una mutació genètica causant de la malaltia.

2.1.3.1.2 Malaltia d'Alzheimer d'inici precoç esporàdica (MAIPE)

Es parla de MAIPE quan no es pot confirmar la presència de MA en la història familiar i, de la mateixa manera que en la meitat dels casos de la MAIPF, no es pot detectar una mutació genètica coneguda.

2.1.3.2 Malaltia d'Alzheimer d'inici tardà (MAIT)

La MAIT es manifesta a partir dels 65 anys, i és la forma de MA més freqüent, representant un 95-97% dels casos.[10]

2.1.3.2.1 Malaltia d'Alzheimer d'inici tardà amb antecedents familiars (MAITF)

Es considera MAITF quan la MA afecta dos o més individus de, com a mínim, tercer grau de parentiu. Representa el 15-25% dels casos de MAIT, i no segueix un patró d'herència autosòmic dominant.

2.1.3.2.2 Malaltia d'Alzheimer d'inici tardà esporàdica (MAITE)

De la mateixa manera que a la MAITF, no s'ha trobat una mutació determinant de la malaltia, però sí que existeixen diversos gens predisponents, com el polimorfisme $\epsilon 4$ del gen *APOE* en el cromosoma 19, que codifica per l'apolipoproteïna E (ApoE).

El gen *APOE* té tres isoformes ($\epsilon 2$, $\epsilon 3$ i $\epsilon 4$), i el genotip més freqüent a la població és el $\epsilon 3/\epsilon 3$. El risc d'accident isquèmic transitori cerebral és 3 vegades més alt que en la població general si hi ha un al·lel $\epsilon 4$, i 10 vegades més en homozigots $\epsilon 4/\epsilon 4$. [12]

2.1.4 Factors de risc no genètics

Està demostrada una sèrie de factors de risc no genètics, sent el principal l'edat avançada. La MA és més freqüent en dones que en homes, amb una relació 1,5-3:1, tot i que aquesta variabilitat podria estar esbiaixada per la major esperança de vida de les dones. [13]

La síndrome de Down també suposa un major risc de MA, ja que la trisomia 21 triplica la presència del gen APP.

També són factors de risc per a MA la història familiar de demència en familiars de primer grau, pèrdues de consciència de més d'una hora de duració secundàries a traumatisme craneoencefàlic, diabetis mellitus, factors de risc cardiovascular, exposició a tòxics (alcohol, tabac...) i un baix nivell de quocient intel·lectual.

2.1.5 Manifestacions clíniques

La MA cursa en tres fases o estats evolutius caracteritzats per la severitat dels símptomes: *MA inicial o lleu*, *MA moderada* i *MA avançada*. En cadascun d'ells es diferencien manifestacions neuropsicològiques, alteracions psiquiàtriques o de comportament i discapacitats en les funcions executives de manera que, a mesura que avança la MA, el malalt es va tornant cada vegada més dependent per desenvolupar les activitats rutinàries. Cadascuna de les etapes té una duració d'uns tres anys aproximadament.

Existeix també una fase preclínica de la MA que, per definició, es tracta d'un estat biològic de la malaltia present abans de que existeixi un dany neuronal suficient com per a manifestar alteracions cognitives.

Les funcions neuropsicològiques i cognitives s'avaluen mitjançant els tests globals de Folstein Mini-Mental State Examination (MMSE) i Clinical Dementia Rating Scale (CDR), i els resultats d'aquests tests es veuen solapats entre els diferents estats de la malaltia.

En primer lloc, el MMSE és una de les escales cognitives-conductuals més utilitzades a la pràctica clínica diària per confirmar i quantificar l'estat mental d'una persona. Avaluja l'orientació, el registre d'informació, l'atenció i el càlcul, el record, el llenguatge i la construcció. Cada ítem té una puntuació, sent la màxima 30 punts. A la taula 2.1 s'exposen les puntuacions del MMSE per a cada grau de severitat de la demència. En la demència tipus MA, la taxa mitjana de canvi en la puntuació és de 2-5 punts anuals.

PUNTUACIONS MMSE	
30-24 punts	Normal
23-21 punts	Demència lleu
20-11 punts	Demència moderada
>10 punts	Demència severa

Taula 2.1. Puntuacions MMSE i grau de severitat de la demència corresponent.

De la mateixa manera, el CDR, desenvolupat l'any 1979, quantifica el grau de severitat de la demència tipus MA, tot i que també es pot utilitzar en altres tipus de demència. És una escala de 5 punts, que avalua els següents dominis: memòria, orientació, seny i resolució de problemes, afers de la comunitat, llar i aficions, i cura personal. Aquests aspectes han de ser avaluats únicament en l'àmbit cognitiu, de manera que si existeix algun impediment físic, aquest no ha d'alterar la puntuació del test. La taula 2.2 mostra les puntuacions del CDR i el grau de la severitat del deteriorament cognitiu que li correspon a cadascuna d'elles

PUNTUACIONS CDR	
0 punts	No deteriorament cognitiu
0,5 punts	Deteriorament cognitiu molt lleu
1 punts	Deteriorament cognitiu lleu
2 punts	Deteriorament cognitiu moderat
3 punts	Deteriorament cognitiu sever

Taula 2.2. Puntuacions CDR i grau de severitat del deteriorament cognitiu corresponent.

A més d'aquests dos tests d'estadiatge dels dèficits cognitius, és important conèixer una altra escala clínico-evolutiva del deteriorament global més específica a l'hora de classificar el grau de severitat de la MA. És la Global Deterioration Scale (GDS), que permet valorar l'estat de la MA en què es troba el pacient, des de l'absència d'alteració cognitiva fins la presència de demència greu, passant per diferents fases, i classificant-les en 7 estadis, que es mostren a la Taula 2.3.

ESCALA GDS (<i>Global Deterioration Scale</i>)	
GDS 1	Individu normal
GDS 2	Deteriorament cognitiu molt lleu / Oblit benigne senil
GDS 3	Deteriorament cognitiu lleu / Compatible amb demència incipient
GDS 4	Deteriorament cognitiu moderat / Demència lleu
GDS 5	Deteriorament cognitiu moderadament greu / Demència moderada
GDS 6	Deteriorament cognitiu greu / Demència moderadament greu
GDS 7	Deteriorament cognitiu molt greu / Demència greu

Taula 2.3. Estadis de la GDS segons el grau de severitat del deteriorament cognitiu o de la demència

2.1.5.1 Malaltia d'Alzheimer inicial o lleu (MAI)

2.1.5.1.1 Manifestacions neuropsicològiques

La MAI es caracteritza per alteracions documentades de les funcions neuropsicològiques i de la memòria i, com a mínim, la presència d'un altre domini cognitiu segons els criteris del National Institute of Neurologic and Communicative Disorders and Stroke-Alzheimer's Disease and Related Disorders Association (NINCDS-ADRDA).[4]

La puntuació del MMSE baixa a 21-26, el CDR és de 0'5-1, i comencen a aparèixer episodis de pèrdua de memòria verbal, dificultat per aprendre dades noves i recordar les recentment apreses. Poden presentar dèficits d'atenció i d'orientació visuoespacial, i poden ser conscients dels símptomes o estar anosognòsics, és a dir, no tenir percepció dels seus dèficits funcionals neurològics.[14]

2.1.5.1.2 Manifestacions psiquiàtriques i de comportament

Són freqüents en la MAI la depressió, l'ansietat i la irritabilitat, que es veuen accentuades per alteracions de la son.[14]

2.1.5.1.3 Manifestacions executives

La majoria d'activitats rutinàries estan conservades en la MAI. Poden veure's alterades les capacitats per dur a terme gestions financeres complexes, conduir o utilitzar aparells electrònics.[14]

2.1.5.2 Malaltia d'Alzheimer moderada (MAM)

2.1.5.2.1 Manifestacions neuropsicològiques

La puntuació del MMSE descendeix a 14-20, i el CDR és de 2. Hi ha alteració en totes les funcions cognitives, sobretot en la memòria i el llenguatge, però les habilitats apreses per mecanismes de memòria a llarg termini es mantenen intactes, de manera que el malalt pot ser independent per algunes activitats.[14]

2.1.5.2.2 Manifestacions psiquiàtriques i de comportament

A la MAM s'inicien les al·lucinacions i els deliris. Sorgeixen problemes socials per comportaments inapropiats com la desinhibició sexual, fet que pot portar al malalt i el seu entorn familiar i de cuidadors a l'aïllament social.[14]

2.1.5.2.3 Manifestacions executives

Augmenten les dificultats per desenvolupar activitats senzilles, i el malalt comença a fer-se dependent per les activitats bàsiques.[14]

2.1.5.3 Malaltia d'Alzheimer avançada (MAA)

2.1.5.3.1 Manifestacions neuropsicològiques

En la MAA, el MMSE es troba per sota de 14 punts, i el CDR progressa fins una puntuació de 3. Existeix una afectació generalitzada de totes les funcions cognitives, el malalt perd la parla i la capacitat d'entendre el llenguatge, llegir o escriure.[14]

2.1.5.3.2 Manifestacions psiquiàtriques i de comportament

El malalt es torna totalment apàtic progressivament després d'haver-se accentuat els símptomes al·lucinatoris.[14]

2.1.5.3.3 Manifestacions executives

La dificultat per dur a terme les activitats bàsiques assoleix un nivell de dependència total, i es perd el control dels esfínters i la mobilitat.[14]

2.1.6 Diagnòstic

Per establir el diagnòstic de certesa de MA, és necessària la confirmació histopatològica de la malaltia. A la pràctica clínica, però, s'utilitzen els criteris diagnòstics de la NINCDS-ADRDA o del Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (DSM IV), necessitant sovint de proves complementàries que recolzin el diagnòstic.

2.6.1.1 Anatomia patològica

2.1.6.1.1 Aspecte macroscòpic

Es detecta una reducció tant en el volum com en la massa dels cervells afectes de MA, els solcs es fan més profunds i els ventricles més amplis, secundàriament a un aprimament cortical. Els lòbuls més afectats són els temporals, així com les àrees corticals motores, sensorials i visuals, i solen presentar un patró d'atròfia cortical simètrica.

És freqüent trobar microinfarts corticals, infarts lacunars als ganglis basals i desmielinització de la substància blanca periventricular. La presència de petèquies o hemorràgies als lòbuls parietals i occipitals són suggestives d'angiopatia amiloide.

Generalment, la *substantia nigra* té un aspecte normal, en canvi, el *locus coeruleus* està afectat fins i tot en estats inicials de la malaltia.[15]

2.1.6.1.2 Aspecte microscòpic

A més de l'atròfia i la reducció en el nombre de neurones, per establir un diagnòstic de certesa de MA es requereix la presència de dues estructures histològiques específiques, però no patognomòniques: les *plaques senils* i els *cabdells neurofibril·lars*.

Les plaques senils (**Figura 2.1**) són un material extracel·lular localitzat a la porció terminal dels axons de la substància grisa del cervell. Estan formades per dipòsits de proteïna β -amiloide associats a microglia, astròcits i material de degeneració neuronal.

Els cabdells neurofibril·lars (**Figura 2.2**) es troben al citoplasma de les neurones, i estan composts de filaments helicoïdals emparellats de proteïna tau hiperfosforil·lada associats a ubiquitina.

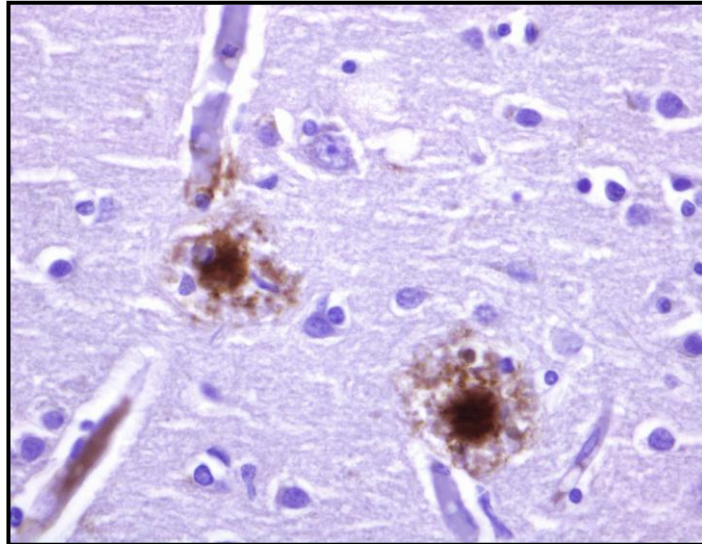


Figura 2.1. Còrtex cerebral en la MA. Tinció immunohistoquímica per a la proteïna β -amiloide, que es diposita a les plaques senils.
MA (malaltia d'Alzheimer)

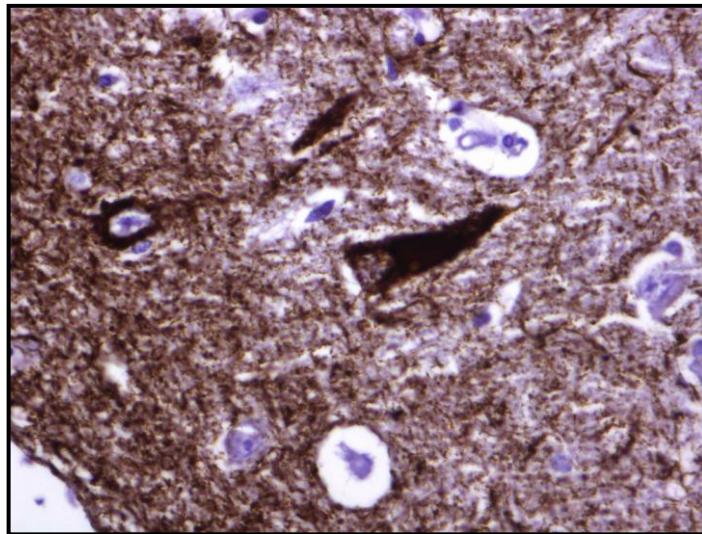


Figura 2.2. Còrtex cerebral en la MA. Tinció immunohistoquímica per a la proteïna TAU, que es diposita als cabdells neurofibril·lars.
MA (malaltia d'Alzheimer)

2.1.6.2 Diagnòstic clínic

Actualment no es disposa de cap prova diagnòstica que ofereixi un diagnòstic de certesa de MA *in vivo*, és per això que a la pràctica clínica es fan servir uns criteris diagnòstics. Aquests

criteris faciliten l'estandardització i la definició de grups de pacients altament homogeneïtzats, i els més utilitzats a la pràctica clínica són els criteris de la NINCDS-ADRDA i del DSM-IV.

2.1.6.2.1 Criteris de la NINCDS-ADRDA

La NINCDS-ADRDA distingeix entre probable MA, possible MA i improbable MA. A més, té en compte tant aspectes clínics com proves complementàries que recolzen el diagnòstic de probable MA.[4] Els criteris diagnòstics de la NINCDS-ADRDA s'exposen a la Taula 2.4.

2.1.6.2.2 Criteris del DSM-IV

Els criteris diagnòstics per a MA del DSM-IV s'exposen a la Taula 2.5.

CRITERIS DIAGNÒSTICS NINCDS/ADRDA (National Institute of Neurological and Communicative Disorders and Stroke/Alzheimer's Disease and Related Disorders Association)
I. Criteris per al diagnòstic clínic de malaltia d'Alzheimer probable <ul style="list-style-type: none"> • Demència, diagnosticada mitjançant examen clínic i documentada amb el minixamen mental de Folstein, l'escala de demència de Blessed, o altres similars, i confirmada amb tests neuropsicològics. • Deficiències en dues o més àrees cognitives. • Empitjorament progressiu de la memòria i d'altres funcions cognitives. • No alteració del nivell de consciència. • Inici entre els 40 y els 90 anys, amb major freqüència després dels 65. • Absència d'alteracions sistèmiques o altres malalties cerebrals que poguessin produir el deteriorament progressiu observat de la memòria i de les altres funcions cognitives.
II. Recolzen el diagnòstic de "malaltia d'Alzheimer probable" <ul style="list-style-type: none"> • Deteriorament progressiu d'alguna funció cognitiva específica com llenguatge (<i>afàsia</i>), habilitats motores (<i>apràxia</i>) i trastorns de la percepció (<i>agnòsia</i>). • Alteracions de la conducta i de la realització de les activitats diàries habituals. • Antecedents familiars de trastorn similar, especialment si va tenir confirmació anatomopatològica. • Proves complementàries: <ul style="list-style-type: none"> ▪ Líquid cefaloraquídi normal, en les determinacions estàndard. ▪ EEG normal, o amb alteracions inespecífiques com increment de l'activitat d'ondes lentes, • Atròfia cerebral en proves d'imatge, objectivant-se progressió de la mateixa en observació seriada.
III. Aspectes clínics compatibles amb el diagnòstic de "malaltia d'Alzheimer probable", després d'excloure altres causes de demència <ul style="list-style-type: none"> • Mesetes en la progressió de la malaltia. • Síntomes associats de depressió, insomni, incontinència, idees delirants, il·lusions, al·lucinacions, accessos emocionals, físics o verbals, alteracions de la conducta sexual, pèrdua de pes. • Altres alteracions neurològiques en alguns pacients, especialment en els que es troben en fase avançada, com hipertonia, mioclònies o alteració de la marxa. • Convulsions, en fase avançada de la malaltia. • TAC cerebral normal per l'edat del pacient.
IV. Aspectes que converteixen el diagnòstic de "malaltia d'Alzheimer probable" en incert o improbable <ul style="list-style-type: none"> • Instauració brusca o molt ràpida. • Manifestacions neurològiques focals com hemiparèsia, alteració de la sensibilitat o dels camps visuals, o incoordinació en fases inicials de l'evolució. • Convulsions o alteracions de la marxa a l'inici o en fases molt inicials de la malaltia.
V. Diagnòstic clínic de malaltia d'Alzheimer possible <ul style="list-style-type: none"> • Demència, amb absència d'altres alteracions sistèmiques, psiquiàtriques i neurològiques que puguin causar aquella demència, però amb una instauració, manifestacions o patró evolutiu que difereixen de l'exposat per al diagnòstic de "malaltia d'Alzheimer probable". • Presència d'una segona alteració, cerebral o sistèmica, que podria produir demència, però que no és considerada pel clínic com la causa d'aquesta demència. • En investigació, quan es produeix deteriorament gradual i intens d'una única funció cognitiva, en absència d'altra causa identificable.
VI. Criteris per al diagnòstic de malaltia d'Alzheimer definitiva <ul style="list-style-type: none"> • Criteris clínics de "malaltia d'Alzheimer probable" • Comprovació histopatològica, obtinguda mitjançant biòpsia o autòpsia.

Taula 2.4. Criteris diagnòstics per a malaltia d'Alzheimer segons el NINCDS/ADRDA.

CRITERIS DIAGNÒSTICS DSM-IV PER A LA MALALTIA D'ALZHEIMER	
A. La malaltia d'Alzheimer està caracteritzada per una declinació progressiva (fins la seva pèrdua completa) de múltiples funcions cognitives, incloses les següents:	
<p>A.1. Alteració de memòria (aprendre nova informació i evocar la ja apresada)</p> <p>A.2. Una o més de les següents alteracions cognitives:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Afàsia • Apràxia • Agnòsia • Alteració de funcions executives 	
B. Les alteracions prèvies representen un deteriorament respecte les capacitats prèvies del pacient, i provoquen dificultats significatives en les funcions ocupacional i social.	
C. L'evolució es caracteritza per instauració gradual i deteriorament cognitiu continu.	
D. Les alteracions expressades en A.1 i A.2 no es deuen al següent:	
<ul style="list-style-type: none"> • Altres trastorns del sistema nerviós central que puguin ocasionar deteriorament progressiu de la memòria i d'altres funcions cognitives (<i>per exemple: malaltia cerebrovascular, malaltia de Parkinson, malaltia de Huntington, hematoma subdural, hidrocefàlia de pressió normal, tumor cerebral</i>). • Trastorns sistèmics que puguin ocasionar demència (<i>per exemple: hipotiroïdisme, deficiència de vitamina B12, àcid fòlic, niacina, hipercalcèmia, neurosífilis, SIDA</i>) • Intoxicacions 	
E. Les alteracions no ocorren únicament durant una síndrome confusional aguda	
F. El trastorn no és atribuïble a una alteració psiquiàtrica que pogués justificar les manifestacions, com per exemple una depressió major o una esquizofrènia.	

Taula 2.5. Criteris diagnòstics per a malaltia d'Alzheimer segons el DSM-IV.

2.1.7 Tractament

Avui en dia no existeix cap tractament preventiu ni curatiu de la MA. Els fàrmacs inhibidors de l'acetilcolinesterasa s'empren en pacients amb MA per pal·liar els símptomes de la malaltia, aconseguint millorar de manera discreta la funció cognitiva i els símptomes psiquiàtrics, i alentar el deteriorament cognitiu.[16]

Els fàrmacs antiglutamatèrgics, com la memantina, són antagoistes dels receptors N-metil D-aspartat (NMDA, uns receptors ionotrópics de glutamat que actuen com a components prioritaris en la plasticitat neuronal i memòria), i aconsegueixen endarrerir el deteriorament cognitiu i millorar la qualitat de vida de pacients amb MA en fase avançada.[16]

En aquests pacients també és important la psicoestimulació cognitiva individualitzada, ja que promou la sinaptogènesi i la plasticitat neuronal.

2.1.8 Profilaxi

Diverses línies d'investigació van encaminades a la prevenció, curació i detenció de la progressió de la MA, com ara la inhibició de β i γ secretases, immunoteràpia per eliminar les plaques de β -amiloide, miniol·lècules de RNA que silenciïn l'expressió de determinats gens, compostos antiapoptòtics inhibidors de caspases, neurotrofines, antiinflamatoris...[16-19]

Actualment, les úniques mesures profilàctiques acceptades són:

- activitat física moderada
- activitat intel·lectual estimulant i continuada
- evitar el tabaquisme
- alimentació hipocalòrica rica en greixos vegetals mono i poliinsaturats
- control dels factors de risc cardiovasculars

2.1.9 Cost sociosanitari de la MA

La MA és una malaltia degenerativa progressiva i incurable, i això, junt amb la tendència cap a l'envelliment de la població, fa que generi un alt cost tant econòmic com social. S'han realitzat anàlisis dels costos que suposa la MA. Els costos directes derivats de la MA, que corresponen a conceptes com hospitalització, visites mèdiques, exploracions, medicació i atenció domiciliària, s'han calculat en 1.500€ en el moment del diagnòstic i 1.800€ anuals per pacient, i representen el 10-30% del cost total. D'altra banda, els costos indirectes, com els serveis i activitats cuidadores sense reemborsament econòmic, representen el 70-90% del cost total, i en un 80% dels casos ho assumeix la família del malalt. En resum, segons diversos estudis s'ha calculat que el cost sociosanitari total aproximat que suposa l'atenció òptima d'un malalt d'Alzheimer oscil·la entre 1.500 i 2.400€ al mes.[20]

2.2 Manifestacions oftalmològiques de la MA

Les disfuncions visuals sovint estan presents de manera precoç en els malalts d'Alzheimer.[21,22] S'han descrit casos d'alteracions campimètriques, visió dels colors, sensibilitat al contrast, percepció de les formes o dels moviments i problemes de motilitat ocular o de fixació de la mirada. Tot i així, cap d'aquestes alteracions és específica de la MA.

Les alteracions visuals en la MA, generalment, han estat atribuïdes a dany neuronal directe, però també a un dèficit d'acetilcolina a les estructures que intervenen en les vies visuals parasimpàtiques.[5,6]

Hi ha evidència que les plaques senils i els cabdells neurofibril·lars apareixen de manera més precoç a les regions cerebrals processadores de les imatges que a l'hipocamp, fet que explica que les disfuncions visuals dels pacients amb MA puguin aparèixer temps abans que la pèrdua de memòria.[23]

2.2.1 Biomarcadors oculars de la MA

Nous àmbits de recerca van dirigits a la possibilitat que existeixin canvis oculars patològics específics de la MA, que podrien donar peu a noves proves diagnòstiques o de cribatge de la malaltia.

En primer lloc, s'ha suggerit que el nucli d'Edinger-Westphal, que juga un important paper en el control de la reacció pupil·lar, és una de les estructures més precoçment afectades en la MA.[24] Es tracta d'un centre mesencefàlic que forma part de la via visual parasimpàtica. En un individu sa, la instil·lació de pilocarpina a baixes concentracions no indueix cap resposta pupil·lar. En canvi, en denervacions de la via visual parasimpàtica es pot observar una hipersensibilitat a la pilocarpina, com per exemple en el cas de la pupil·la tònica d'Adie, en què hi ha denervació per lesió del gangli ciliar o de les fibres postganglionars. Aquest efecte ha estat descrit en pacients amb MA, fins i tot en estats precoços de la malaltia, tant hipersensibilitat pupil·lar a agents agonistes colinèrgics (pilocarpina)[25] com a antagonistes colinèrgics (tropicamida).[26]

S'ha intentat explicar aquesta resposta exagerada a fàrmacs agonistes colinèrgics atribuint-la una reducció de la concentració d'acetilcolina cerebral en pacients amb MA, a l'afectació del *locus coeruleus*,[27], o a diferències en la permeabilitat corneal als fàrmacs colinèrgics entre pacients amb MA i individus sans.

D'altra banda, s'han iniciat diverses línies d'investigació que intenten demostrar un patró de pèrdua de fibres nervioses retinianes específic de la MA. La teoria que justificaria aquesta hipòtesi es basa en un estudi de Trick et al. en el que es reporten defectes campimètrics més evidents a l'hemicamp inferior en pacients amb MA.[28] De la mateixa manera que en pacients afectes de glaucoma típicament s'afecta el camp visual superior en correspondència amb una disminució del gruix de la capa de fibres nervioses (CFNR) de l'hemiretina inferior més precoç, és possible que en pacients amb MA existeixi una pèrdua de fibres nervioses retinianes superiors.

Ahora, s'ha evidenciat una degeneració de les cèl·lules ganglionars de la retina i dels seus axons en diversos estudis histopatològics en pacients amb MA.[29-32]

També s'han realitzat estudis clínics i fotogràfics de la papil·la òptica i de la CFNR que suggereixen que la MA pot anar acompanyada de canvis en la seva morfologia i estructura.[33]

I, més recentment, s'han dut a terme investigacions de la CFNR en pacients amb MA mitjançant Tomografia de Coherència Òptica (OCT) [34-36], demostrant un aprimament de la CFNR, però sense definir un patró característic.

A més d'estudis de la CFNR, Berisha et al [34] descriu un estretament de la columna venosa retiniana i una reducció de la velocitat del flux sanguini de la retina en pacients amb MA, de la mateixa manera que ocorre amb el flux sanguini cerebral d'aquests pacients.[37]

Tots aquests estudis, entre d'altres, van dirigits de manera esperançadora a trobar una o més proves no invasives que puguin facilitar el diagnòstic de la MA en estats precoços, de manera que es puguin oferir tractaments més efectius en estats inicials de la malaltia que enlenteixin el deteriorament cognitiu i, per tant, la dependència dels pacients.

3. Revisió i actualització bibliogràfica

Després d'un segle d'investigacions sobre la malaltia d'Alzheimer (MA), encara no ha estat possible trobar un tractament curatiu ni establir un diagnòstic de certesa de la malaltia *in vivo*.

El diagnòstic actual de probable MA és purament clínic, però altres tipus de demència i condicions, com ara els trastorns depressius, poden manifestar-se amb símptomes similars i donar lloc a un error diagnòstic. De fet, s'ha estimat una taxa d'error en el diagnòstic de la MA entre un 10-15%.[38]

Els fàrmacs emprats en la MA són modificadors dels símptomes de la malaltia, però no han demostrat una efectivitat a llarg termini donat que en la majoria de casos l'aparició dels símptomes de deteriorament cognitiu apareix quan la degeneració neuronal ja és avançada i irreversible. Això, juntament amb l'augment de la prevalença de la MA en els últims anys i els importants costos socio-sanitaris que la MA suposa, ha generat la necessitat de trobar un test sensible i específic per detectar la MA en estadis precoços, abans que les estructures cerebrals implicades dels individus afectats es vegin afectades de manera irreversible.

3.1 Proves d'imatge

Entre les proves d'imatge que han demostrat utilitat en la detecció de la MA es troba la Resonància Magnètica Nuclear (RMN), on es pot detectar una reducció generalitzada del volum cerebral, i més específicament de l'hipocamp.[39,40]

Una altra prova diagnòstica d'imatge amb resultats prometedors per a la detecció precoç de la MA és la Tomografia per Emissió de Positrons (PET), que empra lligands que s'uneixen selectivament a les plaques d'amiloide, com ara el Pittsburg-compound-B (PIB) (**Figura 3.1**), de manera que és possible realitzar una quantificació de plaques d'amiloide cerebrals *in vivo*.[41]

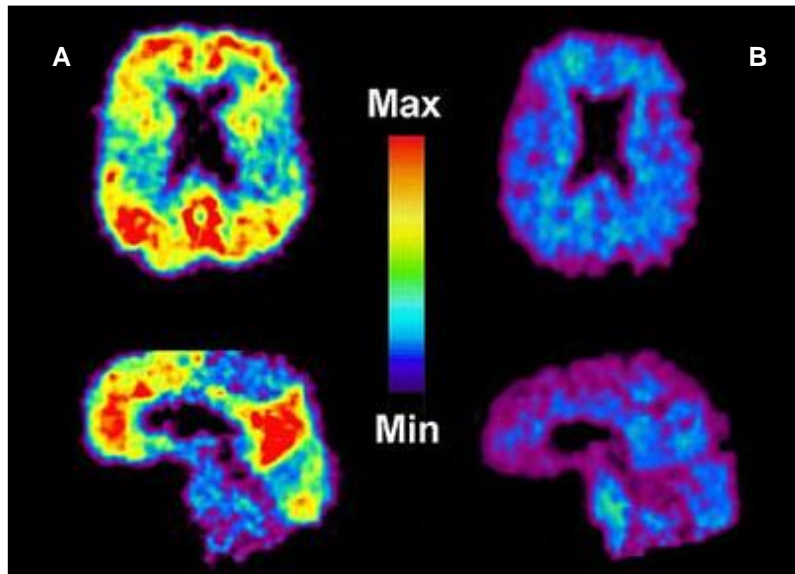


Figura 3.1. Imatge de Tomografia d'Emissió de Positrons amb PIB. A) Pacient amb probable MA, on es pot veure una alta densitat de PIB, unit a les plaques d'amiloide. B) Individu sa, on no es detecta la presència de PIB.

PIB (Pittsburg-compound-B)

MA (malaltia d'Alzheimer)

Tot i l'aproximació diagnòstica de MA d'aquestes tècniques, s'ha de tenir en compte que són tests que comporten un elevat cost econòmic i que no estan a l'abast per poder dur a terme estudis de cribatge de la població general, ni tan sols de la població de risc.

3.2 Anàlisi del líquid cefaloraquidi (LCR)

Els biomarcadors del LCR són els que han demostrat una major aproximació al diagnòstic, detectant-se en pacients amb MA una menor concentració d'amiloide- β_{42} i una major concentració de proteïna Tau que en individus sans.[42]

La combinació de diferents biomarcadors del LCR pot incrementar la sensibilitat i especificitat. Per exemple, combinant els paràmetres d'amiloide- β_{42} i de proteïna Tau, la sensibilitat i especificitat del test és de més del 80%. Fins i tot, s'arriba a una sensibilitat del 100% i especificitat del 97% per a la MA si es combinen 5 paràmetres del LCR detectats per Simonsen et al.[43] Aquest test, però, només compara casos de MA amb individus sans i no dona informació sobre l'especificitat del test respecte altres tipus de demència.

Tot i l'alta reproductibilitat que han demostrat aquests tests, la seva aplicació a la pràctica clínica i com a proves de cribratge no són senzilles ni fàcils d'aplicar, ja que es tracta d'una prova invasiva i d'elevat cost econòmic.

3.3 Biomarcadors oculars

De manera freqüent, els pacients amb MA presenten disfuncions visuals des d'estadis inicials de la malaltia. Aquestes alteracions han estat atribuïdes tant a dany neuronal directe de les estructures que intervenen en les vies visuals parasimpàtiques com a un dèficit d'acetilcolina en les mateixes.[5,6] És per aquest motiu que diverses línies d'investigació han anat dirigides a la possibilitat que existeixin canvis patològics oculars específics de la MA.

3.3.1 Resposta pupil·lar en la MA

En els anys 90, diversos estudis de resposta pupil·lar a agents agonistes i antagonistes colinèrgics van demostrar una hipersensibilitat a aquests fàrmacs en pacients amb MA.[25,26,44,45] L'acetilcolina és un neurotransmissor deficient en la MA,[46,47] per tant aquesta hipersensibilitat de la resposta pupil·lar a agents agonistes colinèrgics podria ser explicada per una disfunció colinèrgica en les cèl·lules nervioses iridianes. Però aquesta teoria no explicaria la hipersensibilitat a antagonistes colinèrgics, ja que s'hauria d'observar una hiposensibilitat als mateixos. Una teoria alternativa per explicar la hipersensibilitat tant a agents agonistes com antagonistes colinèrgics seria l'afectació del *locus coeruleus*,[27] també implicat en el control de l'esfínter pupil·lar, o una major penetració corneal dels fàrmacs colinèrgics en pacients amb MA. De tota manera, un estudi per avaluar la penetració corneal de la tropicamida no va demostrar diferències entre pacients amb MA i controls sans.[48]

D'altra banda, diversos estudis no han demostrat diferències significatives en la hipersensibilitat de la resposta pupil·lar a agents colinèrgics entre pacients amb MA i individus sans.[49-51] D'altres estudis han demostrat hipersensibilitat en pacients amb síndrome de Down sense MA.[52] Fins i tot, alguns estudis demostren diferències en la resposta pupil·lar segons el color

de l'iris[53] o l'edat.[54] Aquests resultats discordants qüestionen la sensibilitat i especificitat del test de resposta pupil·lar en pacients amb MA.

3.3.2 Vascularització retiniana en la MA

Algunes de les alteracions morfològiques oculars que s'han descrit en la MA estan relacionades amb la morfologia dels vasos retinians. S'ha postulat que els pacients amb MA presentarien un estretament venular amb una reducció de la velocitat del flux sanguini venós.[34] De tota manera, aquesta observació ha sigut justificada per altres autors per l'edat dels pacients amb MA, alhora que per un gran nombre de patologies, com ara la hipertensió arterial o un baix nivell plasmàtic de colesterol-HDL (lipoproteïna d'alta densitat).[55] El calibre vascular també pot veure's incrementat per condicions com són la hiperglucèmia, la obesitat o diversos processos inflamatoris.

3.3.3 Capa de fibres nervioses retinianes en la MA

A més de la constricció venular retiniana, s'ha observat un aprimament de la capa de fibres nervioses retinianes (CFNR) de l'hemiretina superior, mitjançant Tomografia de Coherència Òptica (OCT).[34] Aquesta regió es correspon amb el camp visual inferior, i aquest canvis en la CFNR podrien explicar les alteracions campimètriques descrites en pacients amb MA altres estudis.[28] De tota manera, altres estudis mitjançant OCT descriuen patrons diferents d'aprimament de la CFNR en la MA.[35,36]

S'ha hipotetitzat que l'aprimament de la CFNR en la MA podria estar relacionat amb una pèrdua de cèl·lules ganglionars de la retina (CGR) i dels seus axons, tenint en compte els resultats de diversos estudis histopatològics.[29-32] Un estudi de Blanks et al demostra una reducció de fins el 25% de les CGR en l'àrea foveal i perifoveal.[31] Cal tenir en compte, però, que altres estudis no troben canvis significatius en la capa de CGR dels pacients amb MA respecte dels controls.[56,57]

4. Hipòtesi

Segons diversos estudis histopatològics, en els malalts d'Alzheimer existeix una degeneració de les cèl·lules ganglionars retinianes i dels seus axons. D'aquesta manera, i mitjançant la tomografia de coherència òptica, s'objectivarà un aprimament de la capa de fibres nervioses retinianes, així com de la capa de cèl·lules ganglionars de la retina.

D'altra banda, basant-nos en estudis que descriuen una reducció significativa en la concentració d'acetilcolina en pacients amb Alzheimer, s'observarà una hipersensibilitat a agents agonistes colinèrgics administrats de manera tòpica a molt baixa concentració, secundàriament a una disfunció de les fibres nervioses iridianes mediades per aquest neurotransmissor.

5. Objectius del treball

- 1.- Demostrar que existeix un aprimament de la capa de fibres nervioses retiniana en els pacients amb malaltia d'Alzheimer (MA), mitjançant tomografia de coherència òptica de domini espectral.
- 2.- Demostrar que existeix aprimament de la capa de cèl·lules ganglionars retinianes en els pacients amb MA, mitjançant tomografia de coherència òptica de domini espectral.
- 3.- Demostrar que els pacients amb MA presenten una hipersensibilitat de les fibres nervioses iridianes a agents agonistes colinèrgics per via tòpica a molt baixa concentració.
- 4.- Correlacionar l'aprimament de la capa de fibres nervioses i de cèl·lules ganglionars de la retina amb el grau de severitat de la MA.

6. Material i mètodes

En aquest estudi observacional i transversal s'inclouen 15 pacients amb diagnòstic de probable malaltia d'Alzheimer (MA) segons els criteris del National Institute of Neurologic and Communicative Disorders and Stroke-Alzheimer's Disease and Related Disorders Association (NINCDS-ADRDA) seleccionats pel servei de neurologia de l'Hospital Universitari Germans Trias i Pujol (HUGTiP), i 15 controls sans aparellats per edat.

6.1 Criteris d'inclusió

6.1.1 Criteris d'inclusió dels pacients

- Diagnòstic de probable MA
- Agudeses visual (AV) major de 0.5 en ambdós ulls per separat
- Pressió intraocular (PIO) menor a 22mmHg
- Visió cromàtica sense alteracions
- Diàmetre pupil·lar en repòs entre 2mm i 5mm

6.1.2 Criteris d'inclusió dels controls sans

- Agudeses visual (AV) major de 0.5 en ambdós ulls per separat
- PIO menor a 22mmHg
- Visió cromàtica sense alteracions
- Diàmetre pupil·lar en repòs entre 2mm i 5mm

6.2 Criteris d'exclusió

6.2.1 Criteris d'exclusió dels pacients

- Mala col·laboració

- Analfabetisme
- Patologia oftalmològica coneguda, com ara glaucoma, uveïtis, neuropaties òptiques, retinopaties o maculopaties
- Anisocòria major a 1mm
- Alteració en els reflexes pupil·lars
- Sinèquies posteriors oculars (irido-cristal·linianes)
- Afectació del sistema nerviós autònom

6.2.2 Criteris d'exclusió dels controls sans

- Patologia neurològica coneguda o en estudi
- Mala col·laboració
- Analfabetisme
- Patologia oftalmològica coneguda, com ara glaucoma, uveïtis, neuropaties òptiques, retinopaties o maculopaties
- Anisocòria major a 1mm
- Alteració en els reflexes pupil·lars
- Sinèquies posteriors oculars (irido-cristal·linianes)
- Afectació del sistema nerviós autònom

Es van avaluar un total de 17 pacients diagnosticats de probable MA i 16 controls sans similars en edat. Dos dels pacients van ser exclosos de l'estudi per patologia retiniana: un cas per membrana epiretiniana i forat macular lamel·lar i ambliopia severa en l'altre; un dels controls va ser descartat per retinopatia diabètica tractada prèviament amb panretinofotocoagulació.

Els altres 15 pacients (9 homes i 6 dones) i 15 controls (5 homes i 10 dones) van acceptar participar a l'estudi.

El present estudi va ser avaluat pel Comitè Ètic d'Investigació Clínica, obtenint la seva aprovació el 25 de febrer de 2011 seguint els requisits establerts a la legislació vigent.

L'esmentat Comitè va concloure:

- Que es compleixen els requisits necessaris d'idoneïtat del protocol en relació amb els objectius de l'estudi i que estan justificats els riscos i molèsties previsibles pel subjecte.
- Que el procediment per obtenir el consentiment informat i el pla de reclutament de subjectes previst són adequats.
- Que la capacitat de l'investigador i els mitjans disponibles són adequats per portar a terme l'estudi.

De la mateixa manera, el director mèdic de l'HUGTiP va certificar la seva conformitat i acceptació per a dur a terme el present estudi al centre.

6.3 Avaluació prèvia

Tots els individus que s'inclouen a l'estudi (casos i controls) van ser examinats al servei d'oftalmologia de l'HUGTiP després de ser seleccionats pel servei de neurologia del mateix centre. Se'ls va explicar la finalitat de l'estudi i les proves a les que serien sotmesos i van signar el consentiment informat.

6.3.1 Anamnesi

Es va interrogar als pacients sobre els antecedents patològics sistèmics, antecedents oftalmològics i medicació habitual, així com sobre intervencions quirúrgiques prèvies i possibles criteris d'exclusió.

6.3.2 Exploració oftalmològica inicial

Després d'haver realitzat una història clínica completa, tots els individus es van sotmetre a una exploració oftalmològica bàsica per tal d'identificar els subjectes candidats a participar en l'estudi, segons els criteris d'inclusió i exclusió descrits prèviament.

6.3.2.1 Agudesa visual (AV)

La determinació de l'AV té com a finalitat mesurar la claredat de visió o l'habilitat del sistema visual de percebre detalls. Es va determinar l'AV de cada ull per separat emprant un ocluser contralateral, amb la seva correcció òptica habitual per visió llunyana, mitjançant un projector d'optotips en una habitació il·luminada i un ambient tranquil.

El projector d'optotips (**Figura 6.1**) és l'aparell que s'empra per mesurar l'agudesa visual.

Aquest instrument es col·loca a 5 metres de la superfície on es projecten una sèrie d'imatges (optotips) que el pacient ha d'identificar. Els optotips poden ser lletres, números, dibuixos o altres símbols, ordenats per mida en sentit decreixent. En el present treball s'han utilitzat optotips de lletres de Snellen.



Figura 6.1. Projector d'optotips

6.3.2.2 Diàmetre pupil·lar

Es van mesurar els diàmetres pupil·lars en repòs, en condicions d'il·luminació normal i constant, utilitzant un pupil·lòmetre (**Figura 6.2**).

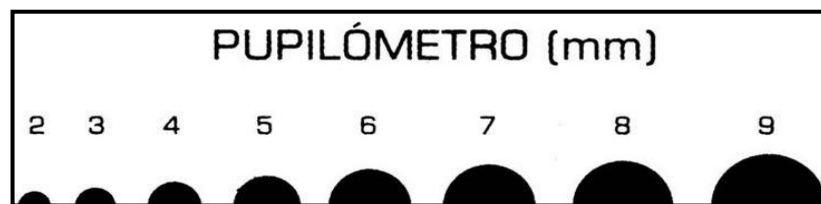


Figura 6.2. Pupil·lòmetre

6.3.2.3 Reflexes pupil·lars

S'examinaren els reflexes fotomotor i consensual, i es descartà la presència d'un defecte pupil·lar aferent relatiu.

6.3.2.4 Biomicroscopia

S'explorà el segment anterior d'ambdós ulls de cada individu a la làmpada de fenedura, per tal de descartar patologia que no permeti la continuïtat a l'estudi per ser criteris d'exclusió, com ara signes d'uveïtis o sinèquies posteriors.

6.3.2.5 Pressió intraocular (PIO)

A tots el individus se'ls mesurà la PIO mitjançant un tonòmetre d'aplanació de Goldmann.

6.4 Estudi d'hipersensibilitat pupil·lar a la pilocarpina

Per a dur a terme el test de sensibilitat a la pilocarpina va ser precis realitzar una dilució de pilocarpina al 0,125%.

6.4.1 Preparació de la dilució

L'obtenció de la pilocarpina diluïda al 0.125% consta de dues parts:



Figura 6.3. Col·liri de Pilocarpina

1. En primer lloc s'obté pilocarpina 1% diluint la pilocarpina al 2% (Colircusí Pilocarpina col·liri en solució 20mg/ml, Alcon Cusi S.A. El Masnou, Espanya) (**Figura 6.3**) en sèrum fisiològic (NaCl 9%) a parts iguals (**Figura 6.4**).

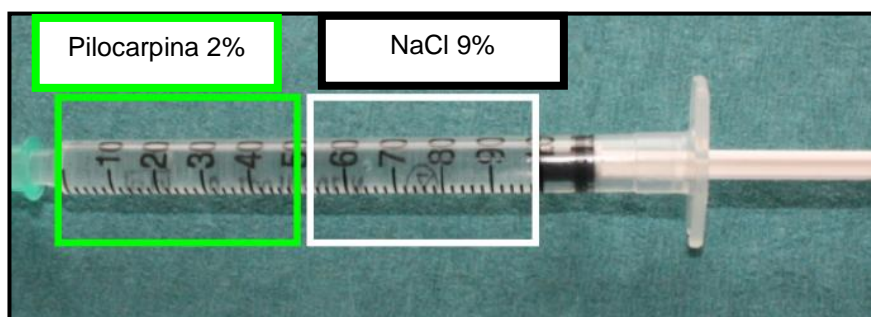


Figura 6.4. Dilució de Pilocarpina a l'1%

2. En segon lloc, diluïm una part de pilocarpina 1% en 8 parts de sèrum fisiològic (Figura 6.5).

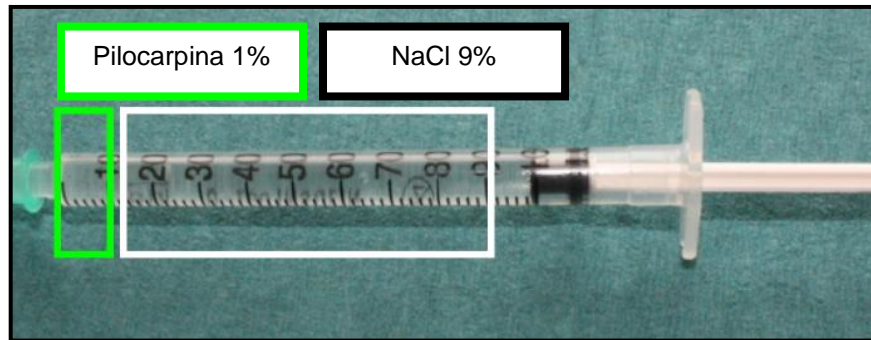


Figura 6.5. Dilució de Pilocarpina a l'0,125%

6.4.2 Test d'hipersensibilitat a la pilocarpina

Després d'haver mesurat el diàmetre pupil·lar en repòs i en condicions lumíniques sempre iguals, es van instil·lar dues gotes de pilocarpina diluïda al 0,125% en un ull de tots els pacients i tots els controls. Es van tornar a mesurar els diàmetres pupil·lars 30 minuts després, determinant el diàmetre de la pupil·la de cada ull així com la diferència entre ells (Figura 6.6).

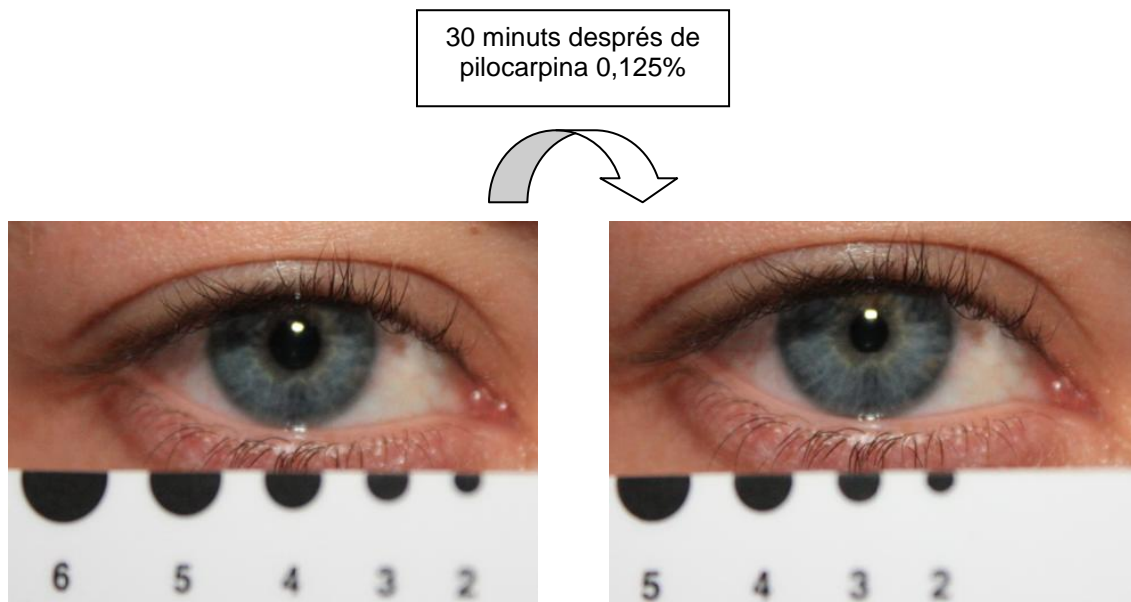


Figura 6.6. Efecte de la instil·lació de pilocarpina diluïda al 0,125% en un pacient amb malaltia d'Alzheimer. Es pot observar una disminució del diàmetre pupil·lar de 1mm, 30 minuts després de la instil·lació.

6.5 Exploració funduscòpica

Un cop realitzat el test d'hipersensibilitat a la pilocarpina, es va induir midriasi instil·lant dues gotes de tropicamida (Colircusi Tropicamida col·liri en solució 10mg/ml Alcon Cusi S.A. El Masnou, Espanya) i dues gotes de fenilefrina (Colircusi Fenilefrina col·liri en solució 100mg/ml, Alcon Cusi S.A. El Masnou, Espanya) en cada ull de tots els individus participants de l'estudi (excepte en pacients amb antecedents de cardiopatia, en els quals només es va instil·lar tropicamida).

Després d'obtenir la màxima midriasi, es va realitzar un examen del fons d'ull per oftalmoscopia indirecta i es van enregistrar imatges en color del pol posterior i papil·la òptica mitjançant un retinògraf (FF 450 PLUS R, Carl Zeiss Meditec, Jena, Alemanya) (**Figura 6.7**).



Figura 6.7. Retinògraf FF 450 PLUS

6.6 Estudi de la capa de fibres nervioses retiniana per Tomografia de Coherència Òptica de Domini Espectral (SD-OCT)

A tots els individus se'ls va realitzar una SD-OCT (3D OCT-2000, Topcon Medical Systems, Tokyo, Japó) (**Figura 6.8**) de la capa de fibres nervioses de la retina (CFNR) per a la posterior anàlisi de les dades. El SD-OCT és una prova diagnòstica no invasiva ni irradiant, basada en interferometria làser, sense efectes adversos associats.



Figura 6.8. 3D OCT-2000 Topcon

Per a l'execució de la prova se segueixen les indicacions descrites a continuació:

- S'acomoda al pacient assegut davant de l'aparell de SD-OCT.
- S'introdueixen les dades identificatives del pacient: nom, cognoms, data de naixement i número d'història clínica.
- Es col·loca el cap del pacient a la mentonera, amb el front recolzat.
- Es realitza la prova, de manera que el pacient fixa la mirada en un punt que se li indicarà en el moment de la realització de la prova
- S'obtenen les imatges
- Es repeteix el procediment amb l'ull contralateral.

La duració de l'examen és de 30 segons per cada ull, i s'obtenen dades de gruix mitjà de la capa de fibres nervioses de tota la retina i dels 4 quadrants per separat.

Les dades s'obtenen a partir de l'escaneig d'una circumferència de 3,4mm de diàmetre centrada en la papil·la que mesura el gruix de la CFNR en diferents punts, obtenint els valors de l'espessor de la CFNR global, per quadrants i per sectors horaris (**Figura 6.9**).

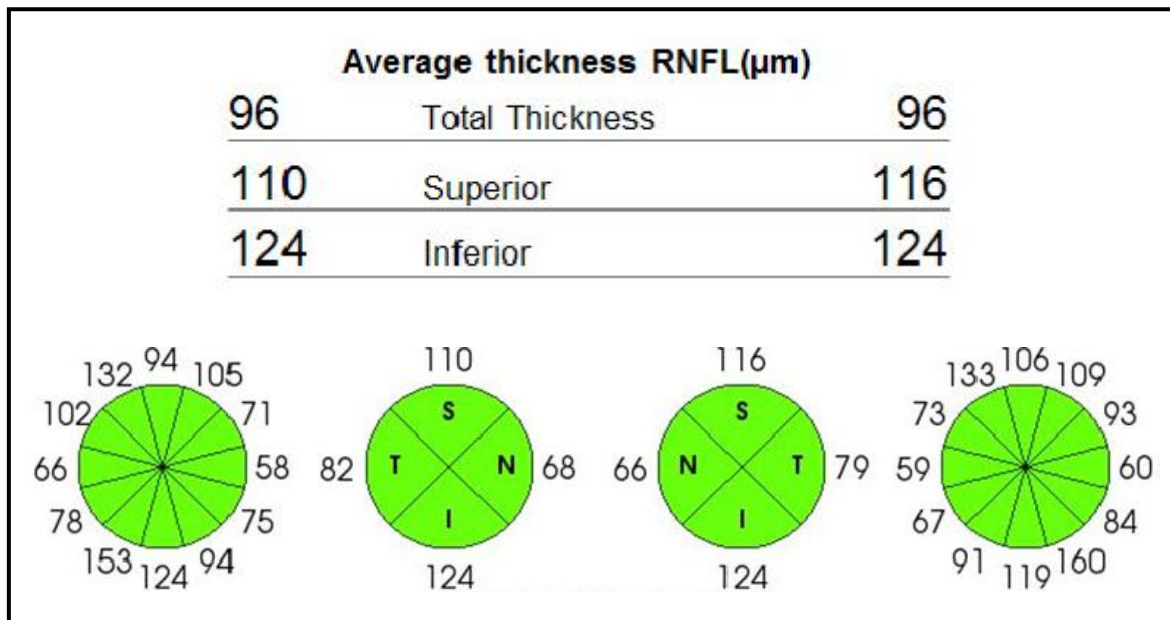


Figura 6.9. Dades del gruix de la CFNR obtingudes mitjançant 3D OCT-2000 Topcon. S'obtenen el gruix mitjà de la CFNR global, per quadrants i per sectors horaris.
CFNR (capa de fibres nervioses de la retina)

6.7 Estudi de la capa de cèl·lules ganglionars i plexiforme interna per SD-OCT

Un cop obtingudes i processades les imatges d'OCT de capa de fibres nervioses retinianes, es procedeix a analitzar la capa de cèl·lules ganglionars (CCG) conjuntament amb la plexiforme interna (CPI), utilitzant el mateix aparell d'OCT.

Per a l'execució de la prova se segueixen les mateixes indicacions descrites anteriorment. La duració de l'examen és de 30 segons per cada ull, i s'obtenen dades del gruix mitjà del complex format per la capa CCG i la CPI de l'hemirretina superior i inferior.

La mesura d'aquest gruix es realitza en els 6mm centrats en la fòvea a partir de l'escaneig vertical de l'àrea macular (**Figura 6.10**).

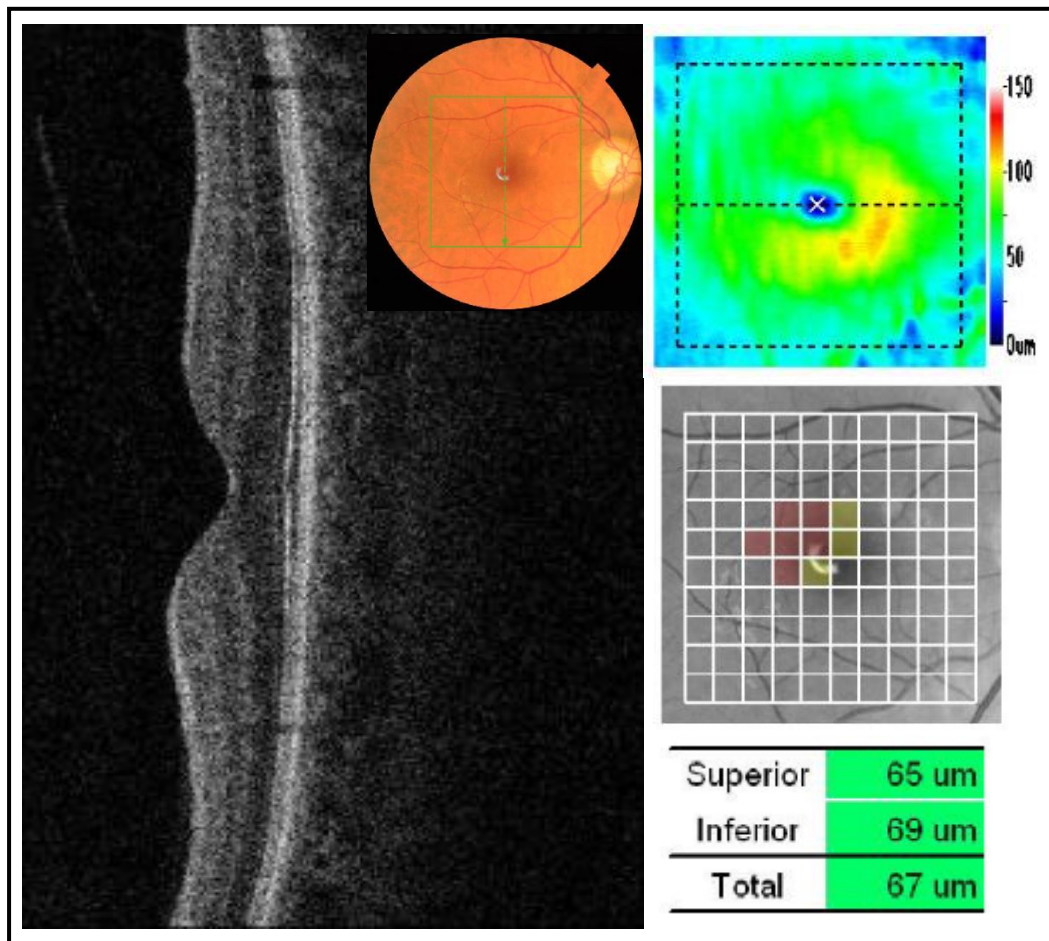


Figura 6.10. Dades del gruix de la CCG i CPI obtingudes amb 3D OCT-2000 Topcon. S'obtenen el gruix mitjà de la CCG de l'hemirretina superior i inferior mitjançant un escaneig vertical de l'àrea macular.

CFNR (capa de fibres nervioses de la retina)

CPI (capa plexiforme interna)

6.8 Estudi del gruix foveal per SD-OCT

Finalment, i fent servir el mateix aparell de SD-OCT, es mesurà el gruix foveal de tots els participants en l'estudi. Aquest procediment es duu a terme mitjançant les mateixes indicacions prèviament descrites. La duració de la prova és de 30 segons per cada ull.

El gruix foveal es va obtenir mitjançant un patró d'escaneig lineal centrat en la fovea (**Figura 6.11**) i emprant l'opció de mesura manual.

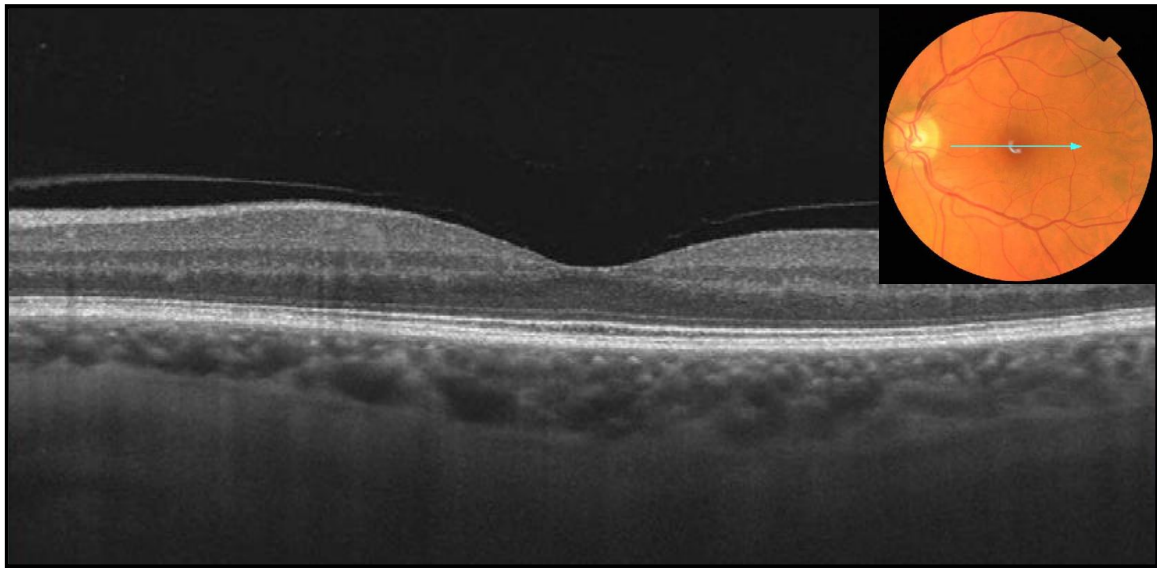


Figura 6.11. Imatge de la fòvea obtinguda amb 3D OCT-2000 Topcon mitjançant un patró d'escaneig lineal.

6.9 Anàlisi estadístic de les dades

S'ha avaluat la normalitat estadística de totes les variables de l'estudi mitjançant el test de Kolmogorov-Smirnov. Per a la comparació de les mitjanes de les variables dels pacients amb MA i del grup control s'ha emprat la prova de t d'Student per dades no aparellades quan aquestes segueixen una distribució normal, o el test de Mann-Whitney quan es requereix una prova no paramètrica, amb un interval de confiança del 95%. S'ha considerat estadísticament significatiu un valor de p menor o igual a 0.05. Tots aquests càlculs han estat realitzats amb el software d'anàlisi estadístic SPSS versió 19.0 (Chicago, IL. Estats Units d'Amèrica).

S'ha emprat un model de regressió amb intercepte aleatori per analitzar la relació entre el grau d'evolució de la MA (valor en l'escala Global Deterioration Scale – GDS) i el gruix de la CFNR i

el gruix de la CCG+CPI. Aquest càlcul s'ha realitzat amb el software d'anàlisi estadístic SAS (Cary, NC. Estats Units d'Amèrica).

6.9.1. Càlcul de la mida mostral

S'ha realitzat un càlcul de la mida de la mostra necessària, prèviament a l'inici de l'estudi, en base als resultats publicats en la literatura científica en relació a la temàtica. Determinant la potència estadística en el 80% i l'error alfa en 0,05, la mida de la mostra mínima havia de ser de 8 individus per grup, segons els articles sobre reacció pupil·lar en la MA, i entre 3 i 16 individus per grup, segons els articles sobre gruix de la CFNR en els pacients amb MA.

7. Resultats

7.1 Descripció de la mostra

En el present estudi s'han inclòs 15 pacients diagnosticats de probable malaltia d'Alzheimer (MA) i 15 individus sans similars en edat com a controls.

De tots els individus participants de l'estudi, es van recollir les dades següents en l'avaluació prèvia:

- Nom i cognoms
- Número d'història clínica
- Edat
- Agudeses visual (AV)
- Pressió intraocular (PIO)
- Grau de severitat de la MA segons l'escala Global Deterioration Scale (GDS).

Les característiques demogràfiques es representen resumides a la taula 7.1., i les dades recollides s'exposen detallades a les taules 7.2. (pacients amb MA) i 7.3 (individus del grup control).

CARACTERÍSTIQUES DE LA MOSTRA				
	X	δ	Rang	p
Edat (anys)				
Casos	68	8	56-84	
Controls	69	11	50-87	0.842
AV (decimal)				
Casos	0,9	0,2	0,5-1	
Controls	0,9	0,2	0,5-1	0.066
PIO (mmHg)				
Casos	16	3	10-21	
Controls	17	2	13-21	0.128

Taula 7.1 Característiques de la mostra
 X (mitjana); δ (desviació estàndard)
 AV (agudeses visual); PIO (pressió intraocular)

DADES DELS PACIENTS AMB MA						
CAS	EDAT (anys)	SEXE	AV (UD/UE)	PIO (mmHg) (UD/UE)	GDS	Temps d'evolució (anys)
1	72	D	0,8/1,0	15/14	4	3
2	56	H	1,0/1,0	14/15	5	4
3	65	H	1,0/1,0	13/13	4	4
4	57	D	1,0/1,0	19/16	5	6
5	77	H	0,7/1,0	18/18	4	2
6	64	D	1,0/1,0	17/17	4	1
7	68	H	0,9/1,0	16/16	5	5
8	76	H	1,0/1,0	21/21	5	2
9	58	H	1,0/1,0	16/16	3	2
10	63	H	1,0/1,0	10/11	No consta	No consta
11	84	D	0,5/0,5	12/12	6	6
12	79	H	0,6/0,5	18/18	4	3
13	64	H	1,0/1,0	15/16	5	4
14	66	D	1,0/1,0	18/18	4	3
15	69	D	0,9/0,9	18/18	4	2

Taula 7.2 Dades recollides dels pacients amb MA inclosos a l'estudi.

MA (malaltia d'Alzheimer)

CAS (número assignat a cada pacient)

H (home); **D** (dona)

AV (agudesia visual); **PIO** (pressió intraocular)

GDS (puntuació en la Global Deterioration Scale)

UD (ull dret); **UE** (ull esquerre)

DADES DELS INDIVIDUS SANS				
CAS	EDAT (anys)	SEXE	AV (UD/UE)	PIO (mmHg) (UD/UE)
1	72	H	0,9/1,0	18/18
2	50	D	1,0/0,9	15/15
3	69	D	0,7/1,0	15/14
4	57	H	1,0/0,8	17/17
5	71	D	0,8/0,8	16/16
6	68	D	1,0/0,9	21/21
7	71	D	1,0/0,9	15/15
8	51	D	1,0/1,0	19/19
9	61	D	1,0/1,0	19/19
10	84	H	0,5/0,5	18/18
11	81	D	1,0/0,9	15/16
12	62	D	1,0/1,0	13/13
13	64	H	0,7/0,7	18/18
14	81	D	0,7/0,6	18/18
15	87	H	0,7/0,5	18/16

Taula 7.3 Dades recollides dels controls sans inclosos a l'estudi.

CAS (número assignat a cada individu)

H (home); **D** (dona)

AV (agudesa visual); **PIO** (pressió intraocular)

UD (ull dret); **UE** (ull esquerre)

7.2 Resposta pupil·lar a la pilocarpina diluïda

En els pacients diagnosticats de MA es va observar una major resposta a la pilocarpina diluïda al 0,125%. La reducció mitjana del diàmetre pupil·lar després de 30 minuts de la instil·lació va ser de $1,67 \pm 0,89$ mm en els pacients amb MA (Figura 7.1) respecte un $0,8 \pm 0,56$ mm en els controls sans, mostrant una diferència estadísticament significativa ($p=0,004$).

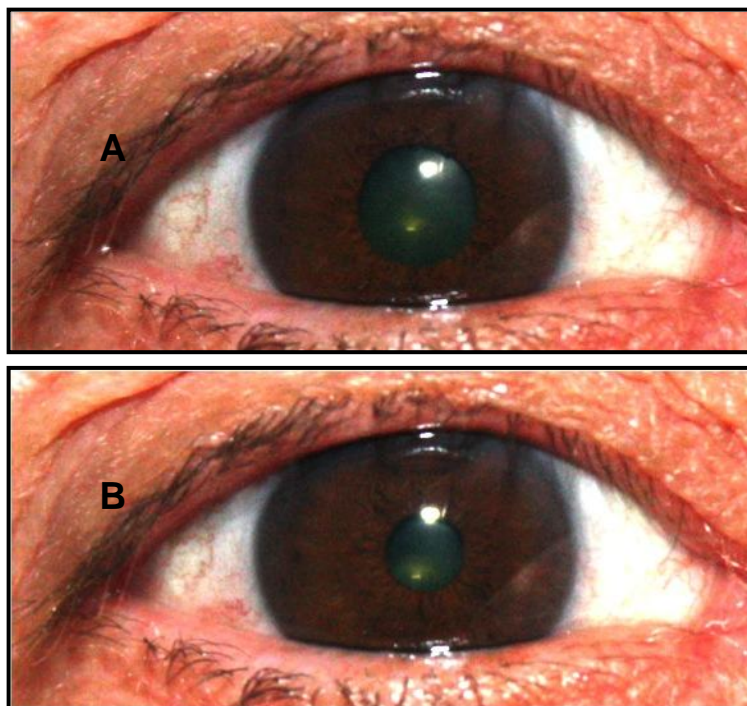


Figura 7.1. Resposta pupil·lar a la pilocarpina diluïda (0,125%) en un pacient amb malaltia d'Alzheimer. **A)** Diàmetre pupil·lar en repòs (4.5mm). **B)** Diàmetre pupil·lar 30 minuts després de la instil·lació de pilocarpina 0,125% (3mm).

7.3 Anàlisi de la capa de fibres nervioses retinianes

El gruix de la capa de fibres nervioses de la retina (CFNR), mesurat per Tomografia de Coherència Òptica de Domini Espectral (SD-OCT), no va mostrar diferències estadísticament significatives entre els dos grups, ni en el gruix mitjà de la totalitat de la retina ($p=1,000$), ni en l'anàlisi del gruix per quadrants:

- Quadrant inferior: $p=0,797$
- Quadrant superior: $p=0,281$
- Quadrant nasal: $p=0,635$
- Quadrant temporal: $p=0,673$

El gruix mitjà de la CFNR global en pacients amb MA va ser de $103,67 \pm 14,36 \mu\text{m}$, i en els controls sans va ser de $103,67 \pm 12,89 \mu\text{m}$.

El gruix mitjà de la CFNR en els pacients diagnosticats de probable MA segons la distribució per quadrants es representa a la figura 7.2.

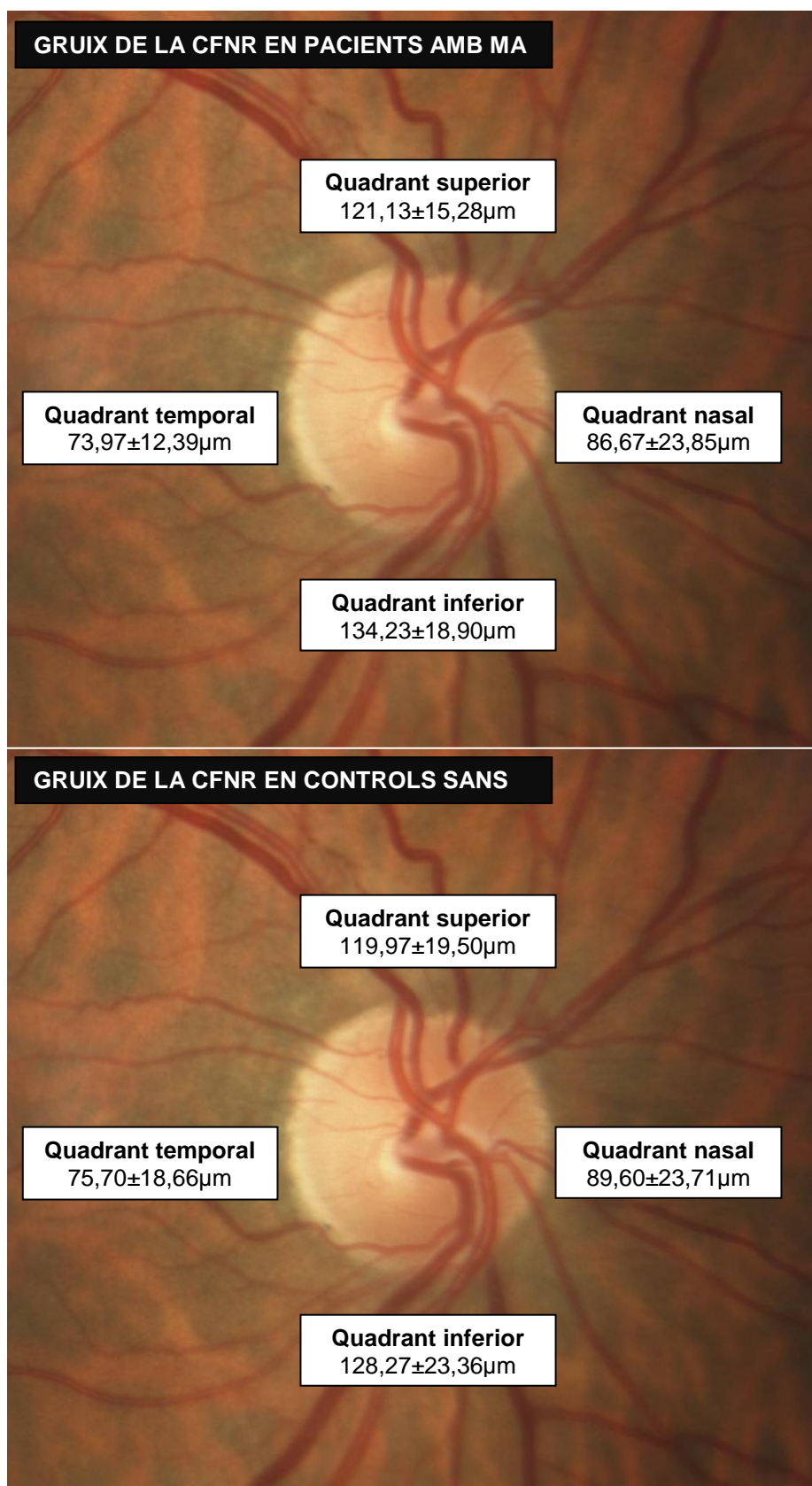


Figura 7.2. Valor mitjà i desviació estàndard del gruix de la CFNR distribuïda per quadrants en pacients amb MA i controls sans similars en edat.

CFNR (capa de fibres nervioses retinianes)

MA (malaltia d'Alzheimer)

7.4 Anàlisi de la relació entre el gruix de la CFNR amb el grau de severitat de la MA

L'anàlisi de regressió mixta entre el grau de severitat de la MA segons l'escala GDS i el gruix de la CFNR no va demostrar cap relació estadísticament significativa, ni amb el gruix global de la CFNR de tota la retina ni amb el gruix de la CFNR distribuït per quadrants. A la taula 7.4. es detallen els valors del coeficient de la correlació i el valor de la significació estadística de la relació entre la severitat de la MA (avaluada segons l'escala GDS) i el gruix de la CFNR tant total com distribuït per quadrants.

Es va observar, però, una tendència a un major aprimament en tots els quadrants de CFNR, a excepció del quadrant inferior, en pacients amb estadis més avançats de la malaltia (valors de GDS més elevats), però sense significació estadística.

	Coeficient	<i>p</i>
Gruix CFNR global	-1,0226	0,2945
Gruix CFNR inferior	0,6397	0,1582
Gruix CFNR superior	-0,5095	0,6882
Gruix CFNR nasal	-1,7567	0,3129
Gruix CFNR temporal	-1,4639	0,1912

Taula 7.4. Coeficient de la correlació entre el gruix de la CFNR global i per quadrants amb la severitat de la MA

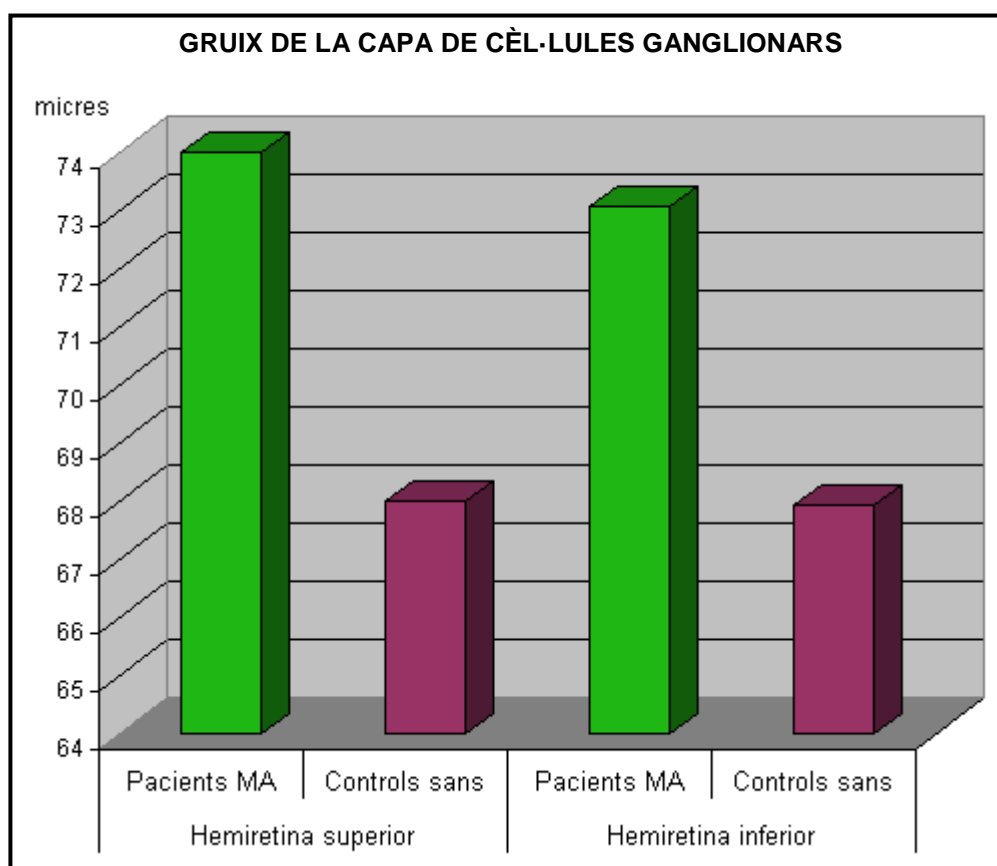
CFNR (capa de fibres nervioses de la retina)

MA (malaltia d'Alzheimer)

7.5 Anàlisi de la capa de cèl·lules ganglionars retinianes

El gruix de la capa de cèl·lules ganglionars (CCG) i plexiforme interna (CPI) de la retina mesurat per SD-OCT va ser significativament major en pacients amb MA que en els controls sans, tant en l'hemiretina superior ($p=0,004$) com inferior ($p=0,004$).

Els gruixos mitjans de la CCG i CPI interna van ser de $74,00 \pm 8,91 \mu\text{m}$ a l'hemiretina superior i $73,03 \pm 7,39 \mu\text{m}$ a la inferior dels pacients amb MA, i de $68,00 \pm 6,32 \mu\text{m}$ a l'hemiretina superior i $67,93 \pm 5,86 \mu\text{m}$ a la inferior en els controls sans (Gràfica 7.1).



Gràfica 7.1. Gruix mitjà de la capa de cèl·lules ganglionars i plexiforme interna dels pacients amb malaltia d'Alzheimer i controls sans.
MA (malaltia d'Alzheimer)

7.6 Anàlisi de la relació entre el gruix de la capa de cèl·lules ganglionars de la retina amb el grau de severitat de la MA

L'anàlisi mitjançant un model de regressió mixta entre el GDS i el gruix de la CCG no va demostrar cap relació amb un nivell de significació estadística, ni amb el gruix de la CCG de l'hemirretina superior ni amb el de l'hemirretina inferior.

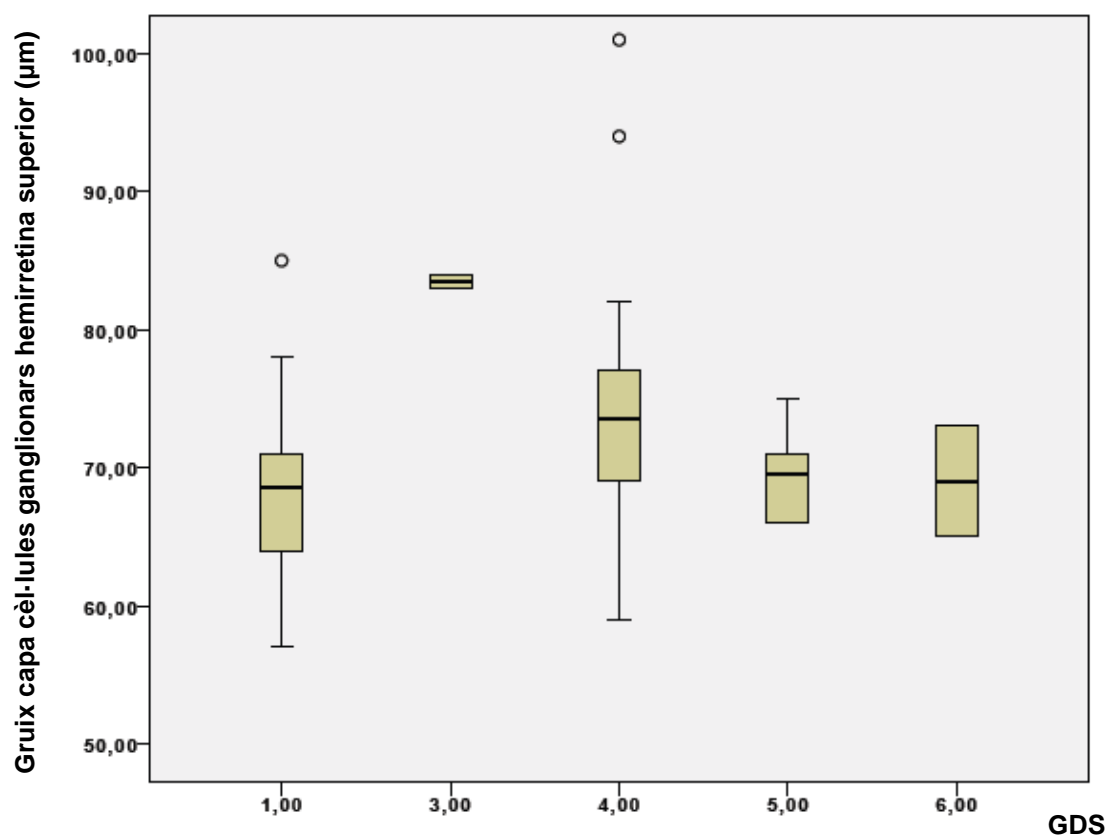
En el conjunt global dels pacients de l'estudi, es va observar, però, una tendència a un major gruix de la capa de cèl·lules ganglionars en pacients amb estadis més avançats de la malaltia (valors de GDS més elevats), però sense significació estadística.

Els valors del coeficient de la correlació i el valor de la significació estadística de la relació entre la severitat de la MA (avaluada segons l'escala GDS) i el gruix de la CCG s'exposen a la taula 7.5.

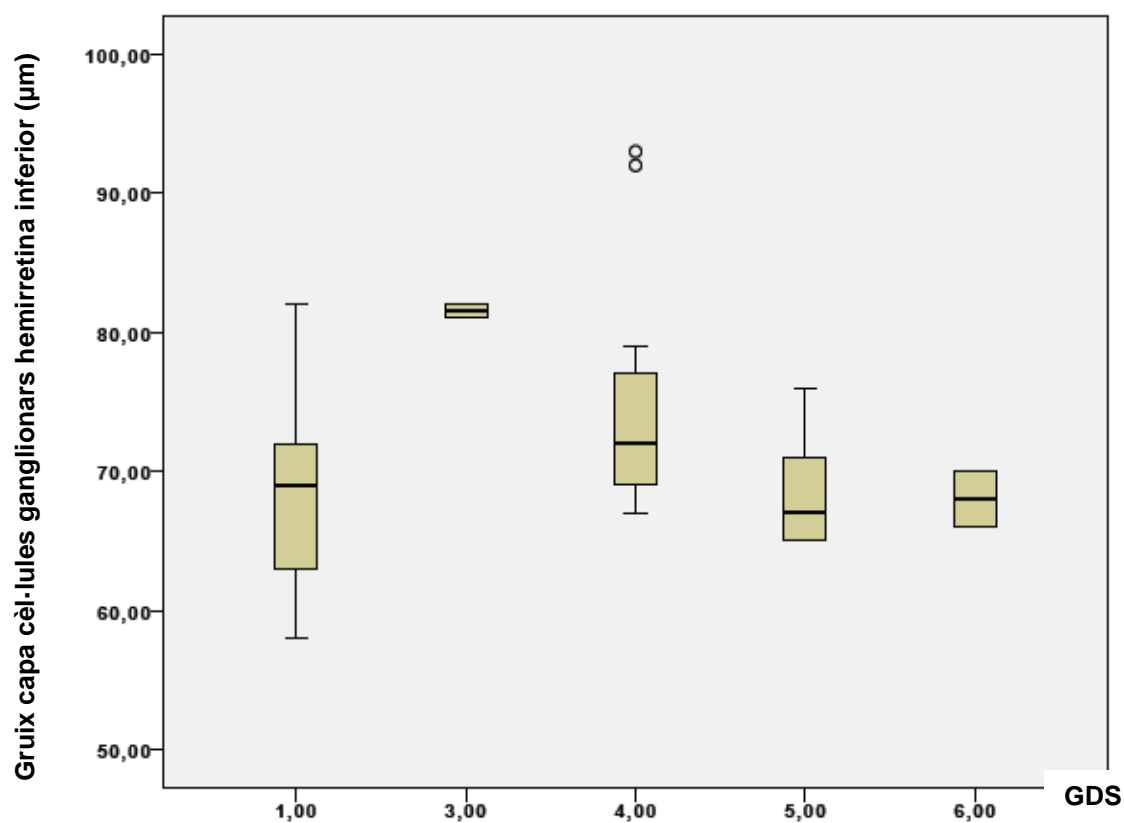
	Coeficient	<i>p</i>
Gruix CCG superior	1.0322	0,0774
Gruix CCG inferior	0,8344	0,0994

Taula 7.4. Coeficient de la correlació entre el gruix de la CCG de l'hemirretina superior i de l'hemirretina inferior amb la severitat de la MA
CCG (capa de cèl·lules ganglionars de la retina)
MA (malaltia d'Alzheimer)

La relació entre el grau de progressió de la malaltia (GDS) i el gruix de la capa de cèl·lules ganglionars, subanalitzat per l'hemirretina superior i inferior, es demostra en les gràfiques 7.2 i 7.3.



Gràfica 7.2. Correlació entre el grau de severitat de la MA i el gruix de la capa de cèl·lules ganglionars de l'hemirretina superior.



Gràfica 7.3. Correlació entre el grau de severitat de la MA i el gruix de la capa de cèl·lules ganglionars de l'hemirretina inferior.

7.7 Anàlisi del gruix foveal

El gruix foveal mesurat amb SD-OCT no va mostrar diferències estadísticament significatives entre els dos grups. El gruix foveal mitjà en el grup de pacients amb MA va ser de $222,03 \pm 48,77 \mu\text{m}$, i en el grup de controls sans similars en edat de $200,40 \pm 50,20 \mu\text{m}$ ($p=0,096$).

8. Discussió

L'impacte sociosanitari de la malaltia d'Alzheimer (MA) no és gens menyspreable i aquest fet ha generat en els últims anys una inquietud i necessitat de trobar tractaments efectius que millorin la qualitat de vida dels malalts i de les persones que estan al seu càrrec.

Un dels problemes de la MA és que quan una persona és diagnosticada de “probable MA”, segons criteris clínics, el dany neuronal subjacent ja és significatiu i irreversible, i això fa que la recerca de nous tractaments per a la MA sigui una tasca molt més complicada. Per tant, és lògic pensar que paral·lelament a una investigació sobre nous tractaments per a la MA, hagi d'existir una investigació sobre noves tècniques que permetin establir un diagnòstic de MA en estadis precoços, abans que el deteriorament cognitiu sigui manifest.

Una bona prova de cribatge de qualsevol malaltia ha de complir una sèrie de característiques.

Ha de ser una prova:

- senzilla de dur a terme
- segura
- que no comporti un cost econòmic excessiu
- reproduïble
- vàlida (alta sensibilitat , especificitat i valor predictiu)

I l'anàlisi de la morfologia i funcionalitat ocular sembla ser un possible àmbit on trobar un test de cribatge de la MA no invasiu i cost-efectiu.

En el present estudi hem comparat els resultats de diverses proves oftalmològiques obtinguts en 15 pacients diagnosticats de probable MA amb els resultats de 15 controls sans similars en edat. En un primer moment es van avaluar un total de 17 pacients diagnosticats de probable MA segons els criteris de la National Institute of Neurologic and Communicative Disorders and Stroke-Alzheimer's Disease and Related Disorders Association (NINCDS-ADRDA) i 16 controls sans similars en edat, però 2 dels pacients van ser exclosos de l'estudi per patologia retiniana

(un cas per membrana epiretiniana i forat macular lamel·lar i ambliopia severa en l'altre), i 1 dels controls va ser descartat per retinopatia diabètica tractada amb panretinofotocoagulació.

Una de les proves a les que s'han sotmès els individus que han participat a l'estudi ha estat el test de resposta pupil·lar a la pilocarpina diluïda. En el nostre estudi hem pogut enregistrar una major resposta a la pilocarpina 0,125% en pacients amb probable MA, reduint-se el diàmetre pupil·lar en $1,67 \pm 0,89$ mm 30 minuts després de la instil·lació, que en els controls sans, en què la reducció del diàmetre pupil·lar va ser de $0,8 \pm 0,56$ mm. Aquesta diferència va ser estadísticament significativa ($p=0,004$) i concordant amb els resultats d'altres sèries publicades [25, 58]. Per exemple, Idiaquez et al. [25] estudien la resposta pupil·lar a la pilocarpina diluïda al 0,0625% en 26 pacients amb MA i 23 control sans, i troben una reducció mitjana del diàmetre pupil·lar en pacients amb MA de $1,28 \pm 0,7$ mm i de $0,28 \pm 0,6$ mm en els controls sans després de 20 minuts de la instil·lació. Aquests resultats són similars als que hem obtingut en el nostre estudi, amb una reducció del diàmetre pupil·lar lleugerament menor, possiblement per una concentració més diluïda de la pilocarpina o per un menor temps d'espera per a la reacció pupil·lar a la pilocarpina. En l'estudi de Kaneyuki et al. [58] s'analitzen 14 pacients amb MA i 10 control sans, mesurant el diàmetre pupil·lar abans i als 5, 10, 20, 30 i 45 minuts després de la instil·lació de pilocarpina diluïda al 0,0625%. Als 30 minuts de la instil·lació de la pilocarpina troben una reducció del 30% (1,36 mm) del diàmetre pupil·lar en els pacients amb MA i del 12% (0,56 mm) en els controls sans. Aquests resultats són lleugerament menors als nostres i aquesta diferència podria estar relacionada amb una menor concentració de la pilocarpina en la dilució emprada.

Tanmateix, altres estudis no troben diferències significatives en la resposta pupil·lar a agents colinèrgics entre pacients amb MA i individus sans. [49-51] Per exemple, Fridh et al. estudien la resposta pupil·lar a la tropicamida 0,01% en 17 pacients amb MA i 20 controls sans obtenint una dilatació del $19,7 \pm 11\%$ en els pacients i del $19,1 \pm 9\%$ en els controls ($p=0,19$). [50] També FitzSimon et al. [51] realitzen un estudi similar en el que inclouen 20 pacients amb MA i 20 controls sans i analitzen la resposta pupil·lar a la tropicamida 0,01% mesurant el diàmetre pupil·lar abans i cada 5 minuts durant els primers 40 minuts després de la instil·lació del

fàrmac. En aquest cas, als 35 minuts de la instil·lació és el moment en què s'obté la midriasi màxima i no troben diferències estadísticament significatives entre el grup de pacients i el grup control ($p=0.34$), sent la diferència mitjana de diàmetres pupil·lars de $0,67 \pm 0,62$ mm ($15,6 \pm 14,6\%$) en els pacients amb MA i de $1,04 \pm 0,94$ mm ($22,7 \pm 20,4\%$) en els controls. Kardon [49] publica una revisió de la literatura on recull 19 estudis en què s'ha analitzat la resposta pupil·lar a la tropicamida 0.01% en pacients amb MA en comparació a grups control. Dels 19 estudis revisats, només un [61] troba diferències estadísticament significatives entre ambdós grups després d'analitzar la resposta pupil·lar a la tropicamida 0.01% en 14 pacients amb MA i 32 individus sans, amb un augment mitjà del 25% del diàmetre pupil·lar en els pacients amb MA respecte un 8% en el grup de controls sans als 41 minuts de la instil·lació, que és el moment en què l'efecte ha estat màxim. Kardon [49] conclou que l'ús de fàrmacs midriàtics o miòtics diluïts com a proves diagnòstiques de malalties neurodegeneratives comporten molta variabilitat entre individus, i aquest fet resta fiabilitat a la utilitat del test de resposta pupil·lar com a prova de cribratge de la MA. No obstant això, els estudis que no han trobat diferències entre pacients amb MA i els controls sans utilitzen la tropicamida 0.01% com a test diagnòstic i no la pilocarpina diluïda com en el nostre cas.

Tots els individus participants en l'estudi van ser sotmesos a l'anàlisi de diferents paràmetres retinians mitjançant Tomografia de Coherència Òptica de Domini Espectral (SD-OCT). El primer d'ells va ser el gruix de la capa de fibres nervioses de la retina (CFNR). En els nostres pacients no hem pogut observar diferències estadísticament significatives entre els pacients afectes de MA i els controls sans, ni en el gruix mitjà de la CFNR de la totalitat de la retina ($p=1,000$), ni cap dels quatre quadrants (inferior, superior, temporal i nasal) analitzats ($p=0,281-0,797$). Aquests resultats no coincideixen amb altres estudis similars publicats, en què es descriuen patrons específics d'aprimament de la CFNR en pacients amb MA. Berisha et al [34] descriuen un aprimament significatiu de la CFNR del quadrant superior, amb un gruix mitjà de $92,2 \pm 21,6$ μ m en els pacients amb MA i de $113,6 \pm 10,8$ μ m en els controls sans ($p=0,02$); però no troben diferències significatives del gruix mitjà de la CFNR en els pacients amb MA respecte dels controls sans en cap dels altres 3 quadrants.

Si comparem els resultats de Berisha et al. [34] amb els nostres, ens adonem que el gruix mitjà de la CFNR en tots els quadrants és lleugerament major segons les nostres dades, tot i que els valors absoluts són molt semblants, i que en cap cas hem trobat diferències estadísticament significatives entre el grup de pacients amb MA i el grup de controls sans.

Una possible explicació per a les diferències entre els dos estudis és que Berisha et al.[34] analitzen un menor nombre d'individus mitjançant un Tomògraf de Coherència Òptica de Domini Temps (TD-OCT) enlloc d'un SD-OCT com en el nostre cas. Tot i que no podem restar fiabilitat als resultats mesurats mitjançant TD-OCT, és difícil comparar els resultats obtinguts per dos mètodes diferents [60].

Altres autors han observat altres patrons d'aprimament de la CFNR en aquests pacients, com són un aprimament generalitzat de la CFNR de tota la retina i dels 4 quadrants per separat. Paquet et al. [35] estudien 26 pacients amb MA (14 amb demència lleu i 12 amb demència moderada-severa) i els comparen amb 23 individus sans, trobant diferències estadísticament significatives en el gruix de la CFNR mitjà de la totalitat de la retina.

En un estudi similar, Parisi et al. [36] també troben diferències estadísticament significatives en el gruix de la CFNR de la totalitat de la retina i dels 4 quadrants per separat entre el grup de pacients amb MA (n=17) i el de controls sans (n=14).

De la mateixa manera que amb l'estudi de Berisha et al. [34], si comparem els nostres resultats amb els obtinguts als estudis de Paquet et al. [35] i Parisi et al. [36] observem que el gruix mitjà de la CFNR de la totalitat i de cadascun dels quadrants és molt semblant a les nostres mesures, sent molt més similars les dades dels grups controls que les dels grups de pacients amb MA. En els estudis de Paquet et al. [35] i Parisi et al. [36] també es va analitzar el gruix de la CFNR mitjançant un TD-OCT i no un SD-OCT, pel que no podem establir conclusions comparant els resultats dels seus estudis amb els obtinguts al present treball.

El grau de progressió de la malaltia dels pacients amb MA podria ser un factor modificador del gruix de la CFNR. D'aquesta manera, seria esperable que els pacients amb MA en estadis més avançats presentessin un major aprimament de la CFNR. Aquesta relació podria representar una altra explicació a les diferències del nostre estudi en comparació a d'altres publicats en la literatura.

Si recordem, existeixen diversos tests emprats a la pràctica clínica per avaluar la severitat de la demència en la MA, i dos dels més utilitzats són el Folstein Mini-Mental State Examination (MMSE) i l'escala Global Deterioration Scale (GDS). El MMSE classifica el grau de demència en normal (30-24 punts), lleu (23-21 punts), moderada (20-11 punts) i severa (>10 punts), i el GDS gradua la demència 7 estats: 1 (normal), 2 (oblit benigne senil), 3 (incipient), 4 (lleu), 5 (moderada), 6 (moderadamet greu) i 7 (greu).

Així, els pacients de l'estudi de Parisi et al [36] es trobaven en estadis de demència entre moderada i greu, amb una puntuació mitjana del MMSE de 16, a diferència del nostre estudi en què es trobaven en estadis molt més inicials de la malaltia, amb una puntuació mitjana del GDS de 4.

De manera parcial, però, aquesta relació no es pot confirmar en l'estudi de Berisha et al. [34] Aquests autors observen un aprimament significatiu de la CFNR exclusivament en el quadrant superior en pacients amb MA en estadis inicials de la malaltia, amb una puntuació mitjana del MMSE de $23,8 \pm 5,1$ punts, que es correspondria amb un estat de demència lleu, similar al grau de demència dels pacients del nostre estudi. En la resta de l'anàlisi de la CFNR no poden detectar diferències significatives entre pacients i controls, de manera similar al que nosaltres hem observat.

És important destacar, quan analitzem les dades del gruix de CFNR en els participants en el nostre estudi, que els valors d'aquest paràmetre és molt semblant al descrit per altres autors.[34-36] Aquesta similitud l'hem trobada tant en el valor global del gruix de CFNR, com en l'anàlisi per quadrants. Així per exemple, el gruix global en els nostres controls és de 103 μm i en l'estudi de Paquet et al [35] és de 102 μm i de 99,9 μm en l'estudi de Parisi et al.[36] Cal

pensar, doncs, que el que motiva que no observem diferències significatives entre els nostres pacients amb MA i els controls en el present estudi, està més en relació als valors semblants a la normalitat del gruix de la CFNR que observem en els pacients amb MA. Aquest punt és el més discordant amb els altres treballs al respecte.

Tal i com hem comentat, cap dels estudis publicats que troben diferències significatives entre el gruix de la CFNR [34-36,59] han fet servir SD-OCT per a l'anàlisi de dades del gruix de la CFNR, sinó que han emprat TD-OCT. Per tant, aquesta diferència metodològica podria ser una de les causes per les que els nostres resultats en quant a gruix de CFNR en els pacients amb MA difereixen dels resultats prèviament publicats. Tot i així, amb el present estudi no podem confirmar el motiu de la variabilitat de resultats.

Un aspecte que ens crida l'atenció en l'anàlisi de la mesura per SD-OCT del gruix de la CFNR en els pacients amb MA és la dispersió dels valors d'aquesta variable. Tant en el global com, especialment, en els quadrants retinians, el gruix de la CFNR presenta un baix grau de homogeneïtat, amb valors de desviació estàndard (DE) no menyspreable. Així, per exemple, la DE en el quadrant nasal dels nostres pacients és de 23,85 μ m, i de 18,90 μ m en l'inferior. Aquesta observació és similar en d'altres estudis: per exemple, la DE en l'estudi de Berisha et al [34] està entre les 15 μ m i les 22 μ m, i augmenta fins les 26 μ m en el quadrant inferior en l'estudi de Parisi et al.[36] Sorprenentment, Paquet et al reporten unes dades de gruix de CFNR extremadament homogènies, amb una DE de 2,9 μ m en els pacients amb una MA en estadis inicials, i una DE de 3,8 μ m en pacients amb MA avançada.[35]

Amb l'anàlisi dels nostres resultats no vam poder establir una correlació estadísticament significativa entre el grau de progressió de la malaltia (mesurat mitjançant la puntuació en la GDS dels pacients) i el gruix de la CFNR en cap dels quadrants retinians. De tota manera, sí que vam observar una tendència sense significació estadística d'un menor gruix de CFNR a mesura que el GDS augmentava, o sigui, en pacients amb MA més avançada. Els valors d'aquesta relació estan detallats en l'apartat 7.4 del capítol de resultats (página 46).

Després de realitzar una recerca en profunditat de la literatura científica en relació a les troballes oftalmològiques en pacients amb MA, no hem pogut trobar cap referència a l'anàlisi *in vivo* del gruix de la capa de cèl·lules ganglionars (CCG) en aquests pacients. Els resultats observats en el nostre estudi han estat certament sorprenents, ja que hem trobat diferències significatives entre el grup de pacients amb MA i el grup de controls sans, tant en l'hemirretina superior ($p=0,004$) com en l'hemirretina inferior ($p=0,004$), però en el sentit oposat al que havíem previst en el disseny de l'estudi. Així doncs, el gruix de la CCG, conjuntament amb la plexiforme interna (CPI), mesurat mitjançant SD-OCT, ha sigut significativament major en pacients amb MA que en els controls sans, tant a l'hemirretina superior com a la inferior.

Aquests resultats no poden ser comparats amb cap altre estudi amb pacients amb MA ja que, com s'ha comentat, no existeix cap referència científica al respecte amb anàlisi *in vivo* de la CCG. Cal buscar estudis histopatològics *post-mortem* per poder intentar entendre, si no comparar, els nostres resultats. S'ha descrit una pèrdua de cèl·lules ganglionars en les retines de pacients amb MA. [29-32]. Per exemple, en l'estudi de Hinton et al. [29] s'analitzen histològicament les retines de 4 ulls de pacients amb MA, trobant una reducció en el nombre de cèl·lules ganglionars en 3 d'elles. Blanks et al. [31,32] realitza un estudi morfològic del nombre de neurones de la CCG tant de la retina central [31] com de la perifèrica [32], analitzant 9 i 16 ulls de pacients amb MA respectivament i comparant els resultats amb els de 11 ulls de controls similars en edat, i conclou que la major reducció de la densitat neuronal en la CCG es presenta a la regió foveal (0-0,5mm de la fovèola) arribant a ser del 43% en aquesta zona, i del 24-26% a la regió perifoveal (0,5-1,5mm de la fovèola).

Cal tenir en compte que tots aquests estudis són en anàlisi anatomopatològica *post-mortem*, i la correlació amb l'estudi *in vivo* mitjançant anàlisi del gruix de CCG amb SD-OCT encara està per demostrar. A més, tots els pacients d'aquests estudis anatomopatològics es trobaven en fases molt avançades de la malaltia, amb demències molt severes, radicalment diferent als pacients del nostre estudi, que estaven en fases inicials de la MA, amb demències lleus o moderades.

Però tot i tenir en compte totes les diferències entre el nostre i aquests estudis *post-mortem*, i la gairebé impossibilitat de comparació dels seus resultats, sí que cal admetre que les troballes en l'anàlisi de la CCG en els nostres pacients amb MA han estat xocants. Inicialment, en el disseny del present estudi, i basant-nos en els estudis anatomopatològics publicats anteriorment, vam preveure que el gruix de la CCG mesurat per SD-OCT en pacients amb MA seria menor o igual que en individus sans. Nosaltres, però, no hem pogut confirmar aquesta hipòtesi inicial, sinó que els nostres resultats han anat en el sentit contrari. Tot i aquesta diferència estadísticament significativa que hem observat en el gruix de la CCG entre pacients amb MA i controls, és interessant aprofundir una mica en els resultats d'aquestes mesures. Tot i que el nombre de pacients és possiblement massa reduït per treure conclusions, sembla que la distribució del gruix de la CCG en els pacients amb MA, tant en l'hemiretina superior com en la inferior, segueix una corba inicialment ascendent, amb increment del gruix, per després progressivament anar disminuint, amb el desenvolupament de la MA. Aquesta relació és pot observar més patentment en les gràfiques 7.2 i 7.3 del capítol de Resultats (pàgina 49). Aquesta tendència en la distribució del gruix de CCG podria estar més en concordança amb els resultats dels estudis histopatològics de les retines dels pacients amb MA, en els que es reporta un increment de l'aprimament a mesura que avança la MA. És a dir, en els pacients amb MA, el gruix de la CCG és menor quan la severitat de la demència segons l'escala GDS és major.

No tenim una explicació certa d'aquesta observació, ni l'hem trobada en la literatura científica. De tota manera, justifiquem de manera hipotètica aquest major gruix de la CCG en pacients amb MA respecte als control sans, en fases més inicials de la malaltia, mitjançant la teoria de l'apoptosi cel·lular, ja emprada en altres patologies com en la retinopatia diabètica.[61] Queda palès, mitjançant estudis anatomopatològics, que les cèl·lules ganglionars retinianes dels pacients amb MA pateixen un procés neurodegeneratiu que acaba amb la mort cel·lular. En aquest procés, podria existir una primera fase o preapoptòtica, en la que la degeneració de les cèl·lules ganglionars inclogués una disfunció cel·lular amb inflor i edema de les mateixes, amb increment del gruix de la CCG per SD-OCT. A mesura que la malaltia progressa, igualment que

la degeneració de les cèl·lules ganglionars, s'aniria produint la mort cel·lular i un progressiu aprimament de tomogràfic de la CCG.

Finalment hem avaluat el gruix foveal dels pacients amb MA mitjançant SD-OCT. Els resultats obtinguts no han mostrat diferències significatives amb els controls. Aquestes troballes coincideixen amb la nostra previsió inicial, ja que era esperable no trobar diferències entre els dos grups, tenint en compte que el gruix foveal ve determinat en la seva major part per la capa de fotoreceptors, que no semblen estar afectats en els estadis inicials de la MA.

El present estudi té una sèrie de potencials limitacions per poder interpretar els resultats i traslladar-los a la població general, com pot ser la inclusió de pacients en diferents estadis de la malaltia, tot i que cap d'ells presentava demència severa. També ho podrien ser la mida mostral limitada, o el no haver diferenciat els pacients que estaven en tractament amb fàrmacs inhibidors de la colinesterasa dels que no.

Per tant, i tenint en compte tots els resultats obtinguts en el nostre estudi, podem concloure que les alteracions de la morfologia i estructura de la retina dels pacients amb MA, analitzada amb SD-OCT, així com l'avaluació de la reacció pupil·lar d'aquests pacients davant de certs fàrmacs, representen un camí esperançador per trobar una prova de diagnòstic precoç de la malaltia no invasiva i cost-efectiva. Tot i això, actualment encara no es pot proposar cap prova de cribratge amb una sensibilitat i especificitat suficients com per poder ser aplicada a la pràctica clínica diària.

9. Conclusions

1.- No existeix un aprimament de la capa de fibres nervioses de la retina en estats precoços de la malaltia d'Alzheimer (MA), mesurat mitjançant tomografia de coherència òptica de domini espectral (SD-OCT), no havent-se trobat diferències estadísticament significatives entre els pacients amb MA i individus sans similars en edat.

2.- No existeix un aprimament de la capa de cèl·lules ganglionars (CCG) de la retina en estats inicials de la MA, mesurat mitjançant SD-OCT. Contràriament, existeix un increment significatiu del gruix de la CCG en aquests pacients ($p=0,004$) en fases inicials de la malaltia.

3.- Els pacients amb MA presenten una hipersensibilitat de les fibres nervioses iridianes a la pilocarpina a 0,125% per via tòpica, amb una disminució del diàmetre pupil·lar de $1,67\pm 0,89$ mm, als 30 minuts de la instil·lació. Aquest canvi pupil·lar és significativament major que en els controls, que va ser de $0,8\pm 0,56$ mm ($p=0,004$).

4.- Existeix una tendència no estadísticament significativa a l'aprimament de la capa de fibres nervioses de la retina en estadis més avançats de la MA, sobretot en la mesura global i en els quadrants superior, nasal i temporal de la retina. No s'ha pogut observar una relació significativa entre el gruix de las CCG i l'estadi evolutiu de la malaltia.

10. Bibliografia

- [1] Brookmeyer R, Johnson E, Ziegler-Graham K, Arrighi HM. Forecasting the global burden of Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement* 2007;3:186-191.
- [2] Ziegler-Graham K, Brookmeyer R, Johnson E, Arrighi HM. Worldwide variation in the doubling time of Alzheimer's disease incidence rates. *Alzheimers Dement* 2008;4:316-23.
- [3] Hooper C, Lovestone S, Sainz-Fuertes R. Alzheimer's Disease, Diagnosis and the Need for Biomarkers. *Biomark Insights* 2008 May 27;3:317-323.
- [4] McKhann G, Drachman D, Folstein M. Clinical diagnosis of Alzheimer's disease: report of the NINCDS-ADRDA work group under the auspices of Department of Health and Human Services Task Force on Alzheimer's disease. *Neurology* 1984;34:939-944.
- [5] Leuba G. Pathology of subcortical visual centres in relation to cortical degeneration in Alzheimer's disease. *Neuropathol Appl Neurobiol* 1995;21:410.
- [6] McKee AC, Au R, Cabral HJ, et al. Visual association pathology in preclinical Alzheimer disease. *J Neuropathol Exp Neurol* 2006;65:621-630.
- [7] Hy LX, Keller DM. Prevalence of AD among whites: a summary by levels of severity. *Neurology* 2000;55:198-204.
- [8] Helmer C, Joly P, Letenneur L, Commenges D, Dartigues JF. Mortality with dementia: results from a French prospective community-based cohort. *Am J Epidemiol* 2001;154:642-8.
- [9] Ziegler-Graham K, Brookmeyer R, Johnson E, Arrighi HM. Worldwide variation in the doubling time of Alzheimer's disease incidence rates. *Alzheimers Dement* 2008;4:316-323
- [10] Bertram L, Tanzi RE. The genetic epidemiology of neurodegenerative disease. *J Clin Invest* 2005;115:1449-1457.
- [11] Campion D, Dumanchin C, Hannequin D, et al. Early-onset autosomal dominant Alzheimer disease: prevalence, genetic heterogeneity, and mutation spectrum. *Am J Hum Genet* 1999;65:664-670.
- [12] Goldman JS, Hahn SE, Williamson-Catania J, et al. Genetic counseling and testing for Alzheimer disease: Joint practice guidelines of the American College of Medical Genetics and the National Society of Genetic Counselors. *Genetics in Medicine* 2011;13:597-605.

- [13] Schmidt R, Kienbacher E, Benke T, et al. Sex differences in Alzheimer's disease. *Neuropsychiatrie* 2008;22:1-15.
- [14] Jicha GA, Carr SA. Conceptual evolution in Alzheimer's disease: implications for understanding the clinical phenotype of progressive neurodegenerative disease. *J Alzheimers Dis* 2010;19:253-72.
- [15] Dugger BN, Tu M, Murray ME, Dickson DW. Disease specificity and pathologic progression of tau pathology in brainstem nuclei of Alzheimer's disease and progressive supranuclear palsy. *Neurosci Lett* 2011;491:122-126.
- [16] Takada-Takatori Y, Kume T, Sugimoto M, et al. Inhibitors used in treatment of Alzheimer's disease prevent glutamate neurotoxicity via nicotinic acetylcholine receptors and phosphatidylinositol 3-kinase cascade. *Neuropharmacology* 2006;51:474-486.
- [17] Wang HY, Bakshi K, Frankfurt M, et al. Reducing amyloid-related Alzheimer's disease pathogenesis by a small molecule targeting filamin A. *J Neurosci* 2012;32:9773-84.
- [18] van Groen T, Kadish I, Funke A, Bartnik D, Willbold D. Treatment with A β 42 Binding D-Amino Acid Peptides Reduce Amyloid Deposition and Inflammation in APP/PS1 Double Transgenic Mice. *Adv Protein Chem Struct Biol* 2012;88:133-52.
- [19] Ubhi K, Masliah E. Alzheimer's Disease: Recent Advances and Future Perspectives. *J Alzheimers Dis* 2012 Jul 17.
- [20] Atance JC, Yusta A, Grupeli BE. Estudio de costes en la enfermedad de Alzheimer. *Rev Clin Esp* 2004;204:64-9.
- [21] Katz B, Rimmer S. Ophthalmologic manifestations of Alzheimer's disease. *Surv Ophthalmol* 1989;34:3143.
- [22] Sadun AA, Borchert M, DeVita E, Hinton DR, Bassi CJ. Assessment of visual impairment in patients with Alzheimer's disease. *Am J Ophthalmol* 1987;104:113-120.
- [23] McKee AC, Au R, Cabral HJ, et al. Visual association pathology in preclinical Alzheimer disease. *J Neuropathol Exp Neurol* 2006;65:621-630.
- [24] Scinto LFM, Frosch M, Wu CK, et al. Selective cell loss in Edinger-Westphal in asymptomatic elders and Alzheimer's patients. *Neurobiol Aging* 2001;22:729-736.

- [25] Idiaquez J, Alvarez G, Villagra R, Martin RAS. Cholinergic supresentivity of the iris in Alzheimer's disease. *J. Neurol Neurosurg Psychiatry* 1994;57:1544-1545.
- [26] Scinto LFM, Daffner KR, Dressler D, et al. A potential noninvasive neurobiological test for Alzheimer's disease. *Science* 1994;266:1051-1054.
- [27] Hou RH, Samuels ER, Raisi M, et al. Why patients with Alzheimer's disease may showincreased sensitivity to tropicamide eye drops: role of locus coeruleus. *Psychopharmacology* 2006;184:95-106.
- [28] Trick GL, Trick LR, Morris P, Wolf M. Visual field loss in senile dementia of the Alzheimer's type. *Neurology* 1995;45:68-74.
- [29] Hinton DR, Sadun AA, Blanks JC, Miller CA. Optic-nerve degeneration in Alzheimer's disease. *N Engl J Med* 1986;315:485-487.
- [30] Sadun AA, Bassi CJ. Optic nerve damage in Alzheimer's disease. *Ophthalmology* 1990;97:9-17.
- [31] Blanks JC, Torigoe Y, Hinton DR, Blanks RH. Retinal pathology in Alzheimer's disease. I. Ganglion cell loss in foveal/parafoveal retina. *Neurobiol Aging* 1996;17:377-384.
- [32] Blanks JC, Schmidt SY, Torigoe Y, et al. Retinal pathology in Alzheimer's disease. II. Regional neuron loss and glial changes in GCL. *Neurobiol Aging* 1996;17:385-395.
- [33] Tsai CS, Ritch R, Schwartz B, et al. Optic nerve head and nerve fiber layer in Alzheimer's disease. *Arch Ophthalmol* 1991;109:199-204.
- [34] Berisha F, Feke GT, Trempe CL, McMeel JW, Schepens CL. Retinal abnormalities in early Alzheimer's disease. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2007;48:2285-2289.
- [35] Paquet C, Boissonnot M, Roger F, et al. Abnormal retinal thickness in patients with mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *Neurosci Lett* 2007;420:97-99.
- [36] Parisi V, Restuccia R, Fattapposta F, et al. Morphological and functional retinal impairment in Alzheimer's disease patients. *Clin Neurophysiol* 2001;112:1860-1867.
- [37] Ruitenberg A, den Heijer T, Bakker SL, et al. Cerebral hypoperfusion and clinical onset of dementia: the Rotterdam Study. *Ann Neurol* 2005;57:789-794.

- [38] Thal LJ, Kantarci K, Reiman EM, et al. The role of biomarkers in clinical trials for Alzheimer disease. *Alzheimer Dis Assoc Disord* 2006;20:6-15.
- [39] Jack CR Jr, Barkhof F, Bernstein MA, et al. Steps to standardization and validation of hippocampal volumetry as a biomarker in clinical trials and diagnostic criterion for Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement* 2011;7:474-485.
- [40] Sabuncu MR, Desikan RS, Sepulcre J, et al. The dynamics of cortical and hippocampal atrophy in Alzheimer disease. *Arch Neurol* 2011;68:1040-8.
- [41] Buckner RL, Snyder AZ, Shannon BJ, et al. Molecular, structural, and functional characterization of Alzheimer's disease: evidence for a relationship between default activity, amyloid, and memory. *J Neurosci* 2005;25:7709-7717.
- [42] Sunderland T, Linker G, Mirza N, et al. Decreased betaamyloid142 and increased tau levels in cerebrospinal fluid of patients with Alzheimer disease. *JAMA* 2003;289:2094-2103.
- [43] Simonsen AH, McGuire J, Podust VN, et al. Identification of a novel panel of cerebrospinal fluid biomarkers for Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging* 2008;29:961-968.
- [44] Gomez Tortosa E, del Barrio A, Jimenez Alfaro I. Pupil response to tropicamide in Alzheimer's disease and other neurodegenerative disorders. *Acta Neurol Scand* 1996;94:104-109.
- [45] Kalman J, Kanka A, Magloczky E, et al. Increased mydriatic response to tropicamide is a sign of cholinergic hypersensitivity but not specific to late-onset sporadic type of Alzheimer's dementia. *Biol Psychiatry* 1997;41:909-911.
- [46] Herholz K, Weisenbach S, Zundorf G, et al. In vivo study of acetylcholine esterase in basal forebrain, amygdala, and cortex in mild to moderate Alzheimer disease. *Neuroimage* 2004;21:136-143.
- [47] Tohyama H, Abe T, Hashiguchi K, Saheki M, Takahashi S. Remarkable reduction in acetylcholine concentration in the cerebrospinal fluid from patients with Alzheimer type dementia. *Neurosci Lett* 1994;177:139-142.
- [48] FitzSimon JS, Waring SC, Kokmen E, McLaren JW, Brubaker RF. Response of the pupil to tropicamide is not a reliable test for Alzheimer disease. *Arch Neurol* 1997;54:155-159.

- [49] Kardon RH. Drop the Alzheimer's drop test. *Neurology* 1998;50:588-591.
- [50] Fridh M, Havelius U, Elofsson G, Hindfelt B. The pupillary response to tropicamide in Alzheimer's disease. *Acta Ophthalmol Scand* 1996;74:276-279.
- [51] FitzSimon JS, Waring SC, Kokmen E, McLaren JW, Brubaker RF. Response of the pupil to tropicamide is not reliable test for Alzheimer's Disease. *Arch Neurol* 1997;54:155-159.
- [52] Sacks B, Smith S. People with Down's syndrome can be distinguished on the basis of cholinergic dysfunction. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1989;52:1294-1295.
- [53] Marx JL, Kumar SR, Thach AB, KiatWinarko T, Frambach DA. Detecting Alzheimer's disease. *Science* 1995;267:1577; author reply 1580-1571.
- [54] Caputo L, Casartelli M, Perrone C, Santori M, Annoni G, Vergani C. The 'eye test' in recognition of lateonset Alzheimer's disease. *Arch Gerontol Geriatr* 1998;27:171-177.
- [55] Sun C. Retinal vascular caliber: systemic, environmental, and genetic associations. *Surv Ophthalmol* 2009;54:7-4.
- [56] Curcio CA, Drucker DN. Retinal ganglion cells in Alzheimer's disease and aging. *Ann Neurol* 1993;33:248-257.
- [57] Davies DC, McCoubrie P, McDonald B, Jobst KA. Myelinated axon number in the optic nerve is unaffected by Alzheimer's disease. *Br J Ophthalmol* 1995;79:596-600.
- [58] H. Kaneyuki, S. Mitsuno, T. Nishida, M. Yamada. Enhanced miotic response to topical dilute pilocarpine in patients with Alzheimer's disease. *Neurology* 1998;50:802-804.
- [59] Iseri PK, Altinas O, Tokay T, Yuksel N. Relationship between cognitive impairment and retinal morphological and visual functional abnormalities in Alzheimer disease. *J Neuroophthalmol* 2006;26;18-24.
- [60] Huang J, Liu X, Wu Z, Guo X, Xu H, Dustin L, Sadda S. Macular and retinal nerve fiber layer thickness measurements in normal eyes with the Stratus OCT, the Cirrus HD-OCT, and the Topcon 3D OCT-1000. *J Glaucoma* 2011;20:118-25.
- [61] Zhang J, Wu Y, Jin Y, et al. Intravitreal injection of erythropoietin protects both retinal vascular and neuronal cells in early diabetes. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2008;49:732-42.

11. Annex

11.1 Consentiment informat - Casos



Germans Trias i Pujol
Hospital

Consentiment informat de participació a l'estudi:

BIOMARCADORS OCULARS EN LA MALALTIA D'ALZHEIMER PRECOÇ - ESTUDI DE CAPA DE FIBRES NERVIOSSES DE LA RETINA I ALTERACIONS PUPIL·LARS

La malaltia d'Alzheimer és el tipus de demència més freqüent al nostre país, i afecta a més de 26 milions de persones a tot el món. Actualment el diagnòstic definitiu de la malaltia d'Alzheimer és difícil, i se n'empra un de probable Alzheimer, que és clínic i d'exclusió. El present estudi va dirigit a estudiar la presència de canvis oculars específics de la malaltia, que podrien generar noves proves diagnòstiques o de cribatge per a una detecció precoç de la malaltia d'Alzheimer.

Aquest estudi inclou tres fases, que es realitzaran en un sol dia, tant al pacient com al familiar o control de l'estudi:

- Una exploració oftalmològica.
- Un test d'hipersensibilitat a la pilocarpina, que consisteix en la instil·lació de col·liri de pilocarpina diluïda al 0.125% en un ull. És una prova no invasiva que rarament pot ocasionar visió borrosa, cefalea i irritació ocular, de manera transitòria.
- Una tomografia de coherència òptica de les fibres nervioses retinianes, una prova no invasiva ni irradiant, totalment indolora i sense efectes adversos associats. Aquesta exploració es realitza sota midriasi farmacològica, prèvia instil·lació de col·liri de tropicamida (possibles efectes adversos transitoris: visió borrosa, fotofòbia, enlluernament i irritació ocular) i fenilefrina (possibles efectes adversos transitoris: visió borrosa, fotofòbia, enlluernament, irritació ocular, tremolor, sudoració, palpitations).

CONSENTIMENT INFORMAT

Data _____

D/a _____ NHC: _____

He entès la naturalesa de l'estudi que m'ha estat explicat satisfactòriament pel metge oftalmòleg - Dra. Gómez, Dr. Valldeperas - i neuròloga - Dra. Latorre.

Així doncs, de manera voluntària:

Dono el meu consentiment per a que se'm realitzin les proves diagnòstiques descrites.

Dono el meu consentiment per a que es puguin realitzar fotografies i/o enregistrar les proves, així com la seva utilització amb finalitat didàctica o científica. Mai s'identificarà el nom del pacient o dels seus familiars en les imatges.

He informat al metge oftalmòleg de les meves malalties generals i oculars, per la valoració de les possibles contraindicacions i/o criteris d'exclusió.

Puc retirar l'autorització per la participació a l'estudi si així ho estimo oportú, sense que això repercuteixi en les atencions mèdiques que rebré.

Doctor que indica

Familiar:

Pacient informat:

DNI:

DNI:

11.2 Consentiment informat – Controls



Germans Trias i Pujol
Hospital

Consentiment informat de participació a l'estudi:

PACIENT CONTROL DE L'ESTUDI

BIOMARCADORS OCULARS EN LA MALALTIA D'ALZHEIMER PRECOÇ - ESTUDI DE CAPA DE FIBRES NERVIOSSES DE LA RETINA I ALTERACIONS PUPIL·LARS

La malaltia d'Alzheimer és el tipus de demència més freqüent al nostre país, i afecta a més de 26 milions de persones a tot el món. Actualment el diagnòstic definitiu de la malaltia d'Alzheimer és difícil, i se n'empra un de probable Alzheimer, que és clínic i d'exclusió. El present estudi va dirigit a estudiar la presència de canvis oculars específics de la malaltia, que podrien generar noves proves diagnòstiques o de cribatge per a una detecció precoç de la malaltia d'Alzheimer.

Aquest estudi inclou tres fases, que es realitzaran en un sol dia, com a familiar o pacient **control de l'estudi**:

- Una exploració oftalmològica.
- Un test d'hipersensibilitat a la pilocarpina, que consisteix en la instil·lació de col·liri de pilocarpina diluïda al 0.125% en un ull. És una prova no invasiva que rarament pot ocasionar visió borrosa, cefalea i irritació ocular, de manera transitòria.
- Una tomografia de coherència òptica de les fibres nervioses retinianes, una prova no invasiva ni irradiant, totalment indolora i sense efectes adversos associats. Aquesta exploració es realitza sota midriasi farmacològica, prèvia instil·lació de col·liri de tropicamida (possibles efectes adversos transitoris: visió borrosa, fotofòbia, enlluernament i irritació ocular) i fenilefrina (possibles efectes adversos transitoris: visió borrosa, fotofòbia, enlluernament, irritació ocular, tremolor, sudoració, palpitations).

CONSENTIMENT INFORMAT

Data _____

D/a _____ NHC: _____

He entès la naturalesa de l'estudi que m'ha estat explicat satisfactòriament pel metge oftalmòleg - Dra. Gómez, Dr. Valldeperas - i neuròloga - Dra. Latorre.

Així doncs, de manera voluntària:

Dono el meu consentiment per a que se'm realitzin les proves diagnòstiques descrites.

Dono el meu consentiment per a que es puguin realitzar fotografies i/o enregistrar les proves, així com la seva utilització amb finalitat didàctica o científica. Mai s'identificarà el nom del pacient o dels seus familiars en les imatges.

He informat al metge oftalmòleg de les meves malalties generals i oculars, per la valoració de les possibles contraindicacions i/o criteris d'exclusió.

Puc retirar l'autorització per la participació a l'estudi si així ho estimo oportú, sense que això repercuteixi en les atencions mèdiques que rebré.

Doctor que indica

Familiar:
DNI:

Pacient informat:
DNI: